



(43) 国际公布日:

2003年12月31日(31.12.2003)

PCT

(10) 国际公布号:

WO 04/000309 A1

(51) 国际分类号⁷: A61K 31/41, A61P 9/10

(21) 国际申请号: PCT/CN03/00475

(22) 国际申请日: 2003年6月19日(19.06.2003)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权: 02122664.4 2002年6月19日(19.06.2002) CN

(71) 申请人(对除美国以外的所有指定国): 中国医学科学院药物研究所(INSTITUTE OF MATERIA, CHINESE ACADEMY OF MEDICAL SCIENCES) [CN/CN]; 中国北京市宣武区先农坛1号, Beijing 100050 (CN)。

(72) 发明人;及

(75) 发明人/申请人(仅对美国): 王晓良(WANG, Xiaoliang) [CN/CN]; 郭宗儒(Gou, Zongru) [CN/CN]; 陆菁(LU, Jing) [CN/CN]; 褚凤鸣(CHU, Fengming) [CN/CN]; 潘雅萍(PAN, Yaping) [CN/CN]; 王玲(WANG, Ling) [CN/CN]; 中国北京市宣武区先农坛1号, Beijing 100050 (CN)。

(74) 代理人: 北京纪凯知识产权代理有限公司(JEEKAI & PARTNERS); 中国北京市西城区宣武门西大街129号 金隅大厦602室, Beijing 100031 (CN)。

(81) 指定国(国家): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW

(84) 指定国(地区): ARIPO专利(GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚专利(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧洲专利(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI专利(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)

根据细则4.17的声明:

• 发明人资格(细则4.17(iv))仅对美国

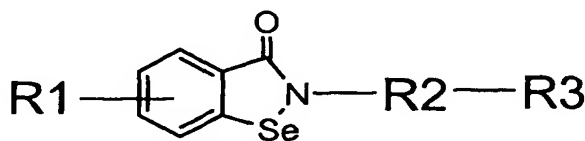
本国际公布:

— 包括国际检索报告。

所引用双字母代码和其它缩写符号, 请参考刊登在每期 PCT公报期刊起始的“代码及缩写符号简要说明”。

(54) Title: THE USE OF BENZISOSELENAZOLONE COMPOUNDS AGAINST ISCHEMIC MYOCARDIAL DAMAGE

(54) 发明名称: 苯并异硒唑酮类化合物抗缺血性心肌损伤的用途



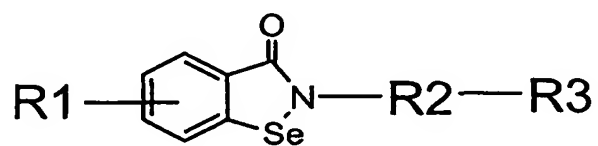
(I)

(57) Abstract: The present invention disclosed the use of benzoselenazolone compounds, particularly the compounds represented by the general formula (1) as the medicament useful against ischemic myocardial damage. Said compounds are highly active and specific with low toxicity, characterized by selectively inhibiting the exchange of Na/Ca, dilating the blood vessel and reducing the amount of oxygen consumed by myocardial tissue.



(57) 摘要

本发明公开了苯并异硒唑酮类化合物，尤其是如通式 (I) 所示的化合物作为抗缺血性心肌损伤药物的用途。这类化合物的特点是选择性抑制心肌 Na/Ca 交换，扩张冠脉，减少心肌耗氧量，具有活性高，特异性强，毒性低的优点。



(I)

苯并异噻唑酮类化合物抗缺血性心肌损伤的用途

技术领域

本发明涉及苯并异噻唑酮化合物药物，尤其是作为抗缺血性心肌损伤药物的用途。

背景技术

随着社会生活水平的提高和人口的老龄化，心血管疾病，特别是缺血性心肌损伤的发病日益增加，已成为影响中老年人生活质量和寿命的重要因素。现今临床应用的扩张血管的硝酸酯类药物，二氢吡啶类钙通道拮抗剂亦即 β -肾上腺能阻滞剂等均伴随有不良反应，临床应用的选择余地小。

钠-钙交换是可兴奋细胞膜上一类重要离子交换系统，其主要功能是越过 Na^+ - Ca^{2+} 交换，将细胞内的钙排出，使胞内钙回复到静息状态水平。在排出一个 Ca^{2+} 同时，转入细胞内三个 Na^+ ，因此有一个净电荷的跨膜移动，产生跨膜电流。钠-钙交换是个双向过程，心肌细胞缺血再灌注初期，心肌细胞膜损伤导致膜电位异常，膜的通透性改变，使大量 Na^+ 进入细胞，此时 Na^+ - Ca^{2+} 交换的反向转运被激活。在排出过多的 Na^+ ，引起细胞内 Ca^{2+} 超载，从而加重了心肌细胞的损伤和死亡。上述的反向转运，在病理状态下，会引起严重的不良后果。因而 Na^+ - Ca^{2+} 交换反向转运被认为是缺血/再灌引起严重不良后

果的重要机制。国内外至今尚无特异性阻断 Na^+ - Ca^{2+} 交换反向转运的药物。

美国专利 4711961 公开了苯并异硒唑酮类化合物的制备方法, 和预测了这类化合物在预防和治疗各种感染疾病, 刺激免疫系统, 硒缺乏疾病, 动脉硬化, 类风湿性疾病, 特别是关节炎的用途, 但没有给出实验或运用方面的证据。苯并异硒唑酮是一组模拟谷胱甘肽过氧化物还原酶的合成化合物, 有代表性的依布硒啉(Ebselen)具有抗炎作用, 并于临床上用作治疗蛛网膜下出血药物, 但未见关于阻止 Na^+ - Ca^{2+} 交换系统的报道。也未见关于心肌缺血的保护作用。

发明内容

为了填补现有技术的空白, 本发明的目的在于提供苯并异硒唑酮化合物或含有它的药物组合物在预防和/或治疗缺血性心肌损伤的用途。

本发明另一方面提供了一种药物组合物, 其包括作为活性成份的苯并异硒唑酮化合物及制药领域中常用的载体。

本发明再一方面提供了一种苯并异硒唑酮化合物及其组合物作为抗缺血性心肌损伤药物的应用。

本发明再一方面提供了一种预防和/或治疗缺血性心肌损伤的方法, 其包括将苯并异硒唑酮或含有它的药物组合物给药于需预防和/或治疗的宿主。

Na^+ - Ca^{2+} 交换蛋白是可兴奋细胞膜上一种重要的双向离子转运蛋

白，它的主要功能是排出细胞兴奋过程中进入细胞内的 Ca^{2+} ，使细胞内 Ca^{2+} 恢复到静息状态水平。在每排出 1 个 Ca^{2+} 的同时，转入细胞内 3 个 Na^+ ，因此有一个净电荷的跨膜移动，产生跨膜电流，是内向的电流。心肌缺血再灌的初期，细胞膜的损伤导致膜电位异常，膜通透性改变，使大量的 Na^+ 进入细胞。此时 Na^+ - Ca^{2+} 交换反向转运被激活，在向外排出 3 个 Na^+ 的同时向细胞内转入 1 个 Ca^{2+} ，引起细胞内 Ca^{2+} 超载，从而加重细胞的损伤及死亡。因而 Na^+ - Ca^{2+} 交换反向转运被认为是缺血/再灌引起严重不良后果的重要机制。

钠-钙交换系统作为跨膜蛋白，是药物作用的重要靶点，迄今尚未见到作用于该蛋白的心肌保护药物的报道。因此，创制对钠-钙交换系统具有特异性阻断作用的药物对治疗缺血性心肌损伤（冠心病），保护心脏具有重要的临床价值。

本发明研究发现苯并异噻唑酮类化合物对 Na^+ - Ca^{2+} 交换具有明显的阻滞作用。本发明的化合物是作用于钠-钙交换系统的新型抗缺血性心肌损伤的化合物。

细胞水平的实验结果表明，本发明化合物和 Amiloride、KB-R7943 相比较，对 Na/Ca 交换的靶点更加专一，选择性高。通过实验比较了 Amiloride、KB-R7943 及本发明化合物对 Na^+ - Ca^{2+} 交换电流的作用。研究发现 Amiloride 在低浓度时对内、外向电流几乎没有作用，高浓度是对外向 $I_{\text{Na-Ca}}$ 的抑制作用更明显；KB-R7943 在双向离子条件下对内、外向 $I_{\text{Na-Ca}}$ 无选择性，在阻断外向电流的同时，对内向电流也有抑制，而影响正常的排 Ca^{2+} 功能；而本发明化合物抑制作用最强，而

且选择性作用于外向电流，对外向 I_{Na-Ca} 的抑制作用明显强于其对内向 I_{Na-Ca} 的抑制作用，有利于抑制缺血/再灌时的钙超载和由此造成的心肌损伤。本发明的化合物均有一定的抑制 Na/Ca 交换反向转运的作用，抑制率 40%以上的为作用较强化合物，作用最强者接近 60%。

本发明人不仅在细胞水平的病理模型上说明了本发明化合物的抑制 Na/Ca 交换反向转运的作用，还在相应的离体、整体实验上验证本发明的化合物的抗心肌缺血损伤作用。

本发明在前期电生理细胞模型筛选的基础上，经对 Na/Ca 交换反向转运产生的外向电流的抑制率的比较，进一步进行了离体实验，实验采用大鼠离体心脏缺血再灌注 (I/R) 损伤模型。以心律失常的持续时间，室早，室速和室颤的发生率作为心肌损伤的指标，观察化合物的心肌保护作用。发现本发明化合物有显著心肌保护作用。

大鼠静脉注射本发明化合物对心肌保护作用。发明本发明化合物可显著性延长缺血一再灌注心律失常的潜伏期，降低 VT 和 VF 的发生率，缩短 VT 和 VF 的持续时间。说明大鼠静脉注射上述化合物，对冠状动脉缺血再灌注损伤有明显的保护作用。以心脏损伤后出现心律失常的程度作为评价指标。同样，大鼠口服给药的对心肌缺血保护作用。灌胃本发明的化合物后 60min 时结扎冠状动脉左前降支造成心脏缺血，15min 后实现再灌注。本发明化合物可显著性缩短缺血-再灌注心律失常 ($P<0.01$) 的持续时间，降低 VT ($P<0.01$) 和 VF ($P<0.05$) 的发生率，缩短 VT ($P<0.01$) 和 VF ($P<0.05$) 的持续时间。本发明化合物，对冠状动脉缺血再灌注损伤有明显的保护作用。

本发明化合物具有明显改善犬急性心肌缺血和心肌梗塞的作用，减轻由心外膜电图标测的心肌缺血程度(Σ -ST)，降低心肌缺血范围(N-ST)，减小经 N-BT 染色所显示的梗塞区。本发明和化合物有明显减轻心肌缺血程度(Σ -ST)的作用， Σ -ST 在给药后 180min 和给药前相比下降了 $53.90 \pm 20.60\%$ ，与药前及对照组比较均有显著性差异 ($P < 0.01$)。心外膜电图 (EEG) 标测的实验结果表明，本发明化合物对实验性急性犬心肌缺血有明显的改善作用，可显著减轻心肌缺血程度(Σ -ST)，减小心肌缺血范围(N-ST)。本发明化合物能减少犬急性心肌梗塞范围。以定量组织学 N-BT 染色法显示，给予本发明化合物后明显减少动物心肌梗塞区面积，较空白对照组降低了 69.18% 和 67.94%，与对照组比较均有显著性差异 ($P < 0.001$)。本发明化合物能明显抑制 CK、AST 活性升高的作用，而对 LDH 活性的影响与对照组无明显差异。

本发明化合物有扩张冠状动脉血管的作用，有显著增加缺血和心肌梗塞时心脏冠脉血流量的作用，可扩张冠脉血管，促进侧支循环的开放，改善缺血心肌的供血。本发明药后 30min 冠脉血流量增加明显，比药前增加了 $15.02 \pm 22.16\%$ ，与对照组组比较，有明显差异 ($P < 0.05$)。本发明化合物药后能增加静脉血氧含量明显增加，与药前比较差异明显 ($P < 0.05$)。实验结果表明，本发明化合物可明显改善犬急性心肌缺血和心肌梗塞的病理表现，减轻心肌缺血程度，减小心肌梗塞面积；同时可扩张冠脉血管，增加冠脉血流量；并可抑制 CK 活性升高及 AST 的释放。以上结果与该

化合物的药理学作用机理相吻合,即选择性阻断 Na/Ca 交换的反向转运,及由此引起的心肌缺血损伤和扩张冠状动脉,改善心脏供血状况。

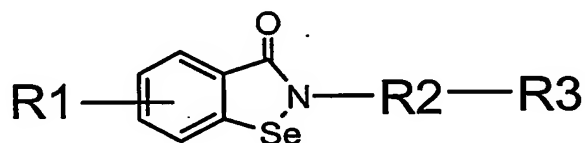
本发明化合物对正常大鼠心功能和血流动力学无影响。实验结果表明本发明化合物对正常麻醉大鼠左心室收缩压 (LVSP)、左心室舒张末压 (LVEDP)、左心室等容期压力最大变化速率 ($\pm dp/dt_{max}$)、动脉收缩压 (SP)、动脉舒张压 (DP)、平均动脉压 (MAP)、心率 (HR) 均无明显影响。本发明化合物的各项指标同溶剂对照组相比无明显差异,经检验无统计学差异。

本发明化合物有改善大鼠缺血心脏的心功能和血流动力学的作用。本发明化合物使心脏缺血/再灌大鼠的 LVSP 基本保持平稳;模型对照组则波动较大。模型对照组 LVEDP 在再灌 10min 后急速上升,表明左心室舒张不全,舒张功能严重受损,本发明化合物组的 LVEDP 则基本保持正常,提示本发明化合物对心肌舒张功能的保护作用较强。本发明化合物组对心脏 $\pm dp/dt_{max}$ 降低不明显,模型对照组降低较多,比本发明化合物组低 54%,说明给药组的心肌收缩性能受损较小。 $-dp/dt_{max}$ 是心肌舒张参数,是评价心室舒张功能的重要指标之一。接扎后,给药组的每一个时相点与对照组比较都有显著性差异。本发明化合物使心肌收缩性能下降的同时,舒张功能保持较好。由于本发明化合物能保护心脏功能,所以能维持较稳定的血压,模型对照组心肌受损严重,血压降低较多,波动也较大。大鼠心肌缺血/再灌后心率下降,本发明化合物对大鼠心率无影响,两组没有显著性差异。大鼠心肌缺血/再灌时心功能受损,表现为心脏收缩功能舒张功

能降低，血压降低或波动较大，本发明化合物对大鼠的心功能有保护作用，尤其以心脏舒张功能的改善为显著，基本维持在正常范围内，且大鼠血压维持也较稳定，而本发明对心肌受损后心率下降无影响。

毒理学实验说明本发明化合物没有致突变作用、安全性高、毒性低。在 Ames（致突变）实验中，采用不同的菌株，在不同的浓度下，本发明化合物的实验结果均为阴性。在急性毒性实验中，本发明化合物的各剂量组均未见动物死亡，半数致死量 $LD_{50} > 5g/kg$ 。

本发明的苯并异硒唑化合物，包括但不限于，如通式（I）所示的化合物



(I)

其中，R1 选自氢原子，卤素， C_1-C_4 的直链或支链烷基， C_1-C_4 的直链或支链烷氧基，羟基，三氟甲基，硝基，二- $(C_1-C_4$ 烷基)-胺基， R_1 可以是亚甲二氧基氢，R1 的取代位置是在苯并异硒唑中苯环的 3-、4-、5-或 6-位的任意位置；

R2 是 C_0-C_4 的饱和或不饱和的链烃（当 C_0 是 R2 表示一个连接 R3 和 N 的键），优选是 C_0-C_2 的饱和或不饱和的链烃，更优选是 C_0-C_1 的饱和或不饱和的链烃，最优选是 C_0 即 R3 和 N 直接相连。

R3 表示取代或非取代、饱和或不饱和的苯环基、杂环基；杂环基优选含有 1 到 4 个杂原子，更优选含有 1 到 2 个杂原子，杂原子选自氧原子、氮原子、硫原子；更优选的 R3 选自苯基，硫苯基，噻唑基，异噻唑基，咪唑基，吡唑基，噻二唑基，吡啶基，嘧啶基，吡嗪基，哒嗪基，苯并噻唑基，苯并咪唑基，苯并三唑基，三嗪基，三唑基，四唑基，喹啉基，异喹啉基，吲哚基，吲唑基，卡巴唑基，呋喃基；最优选的 R3 选自苯基、吡啶基；

杂环基可以是单取代，或二取代的，取代基可以相同或不同的，取代基选自卤素，C₁-C₄ 的直链或支链烷基，C₁-C₄ 的直链或支链烷氧基，C₁-C₄ 的直链或支链烷硫基，C₁-C₄ 的直链或支链的酮基，C₁-C₄ 的直链或支链卤烷基，羟基，硫基，硝基，腈基，羧基，烷氧羰基；

杂环上优选的取代基选自卤素，C₁-C₄ 的直链或支链烷基，C₁-C₄ 的直链或支链烷氧基，C₁-C₄ 的直链或支链烷硫基，C₁-C₄ 的直链或支链卤烷基，C₁-C₄ 的直链或支链的酮基，羟基，硫基，硝基，腈基，羧基，烷氧羰基；

杂环上的更优选取代基选自，氟，氯，溴，甲基，乙基，丁基，甲氧基，乙氧基，甲基硫基，乙基硫基，三氟甲基，羟基，硫基，，硝基，腈基，羧基，烷氧羰基；

杂环上的最优选取代基选自，氟，氯，溴，甲基，甲氧基，乙氧基，甲基硫基，羟基，硫基，硝基，羧基、甲氧基羰基、乙氧基羰基。

最优选的化合物选自：

2-苯基-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
4-氟-2-苯基-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
5-氟-2-苯基-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
6-氟-2-苯基-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
7-氟-2-苯基-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
4-氯-2-苯基-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
5-氯-2-苯基-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
6-氯-2-苯基-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
7-氯-2-苯基-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
4-羟基-2-苯基-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
5-羟基-2-苯基-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
6-羟基-2-苯基-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
7-羟基-2-苯基-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(3-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(4-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
4-氯-2-(2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
4-氯-2-(3-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
4-氯-2-(4-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
5-氯-2-(2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
5-氯-2-(3-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
5-氯-2-(4-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,

6-氯-2-(2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
6-氯-2-(3-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
6-氯-2-(4-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
7-氯-2-(2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
7-氯-2-(3-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
7-氯-2-(4-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
4-氟-2-(2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
4-氟-2-(3-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
4-氟-2-(4-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
5-氟-2-(2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
5-氟-2-(3-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
5-氟-2-(4-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
6-氟-2-(2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
6-氟-2-(3-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
6-氟-2-(4-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
7-氟-2-(2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
7-氟-2-(3-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
7-氟-2-(4-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
4-羟基-2-(2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
4-羟基-2-(3-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
4-羟基-2-(4-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
5-羟基-2-(2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,

5-羟基-2-(3-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
5-羟基-2-(4-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
6-羟基-2-(2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
6-羟基-2-(3-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
6-羟基-2-(4-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
7-羟基-2-(2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
7-羟基-2-(3-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
7-羟基-2-(4-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(3-羟基-2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(2-氯-3-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(5-氯-2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(6-甲氧基-3-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(2,6-二氯-3-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(4,6-二甲基-2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(6-羟基-2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(3-硝基-2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(5-硝基-2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
6-甲基-2-(2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
6-甲氧基-2-(2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
5-硝基-2-(2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
7-甲氧基-2-(2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
6,7-亚甲二氧基-2-(2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,

2-(3-甲基-2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(4-甲基-2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(5-甲基-2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(6-甲基-2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(3,5-二氯-2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(4-氯-2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(4-羧基-5-氯-2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(3-羧基-2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,

2-(2-四氢吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(2-嘧啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(2-噻唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(苯并噻唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(4-甲基-2-嘧啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(5-硝基-2-嘧啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(4,6-二甲基-2-嘧啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
(2,6-二甲基-4-嘧啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(5-乙氧基-2-乙基硫基-4-嘧啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(5-乙氧基羰基-2-羟基-4-嘧啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮
2-(5-羧基-4-嘧啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(6-氯-2-甲基硫基-4-嘧啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(4-氯-2-甲基硫基-6-嘧啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,

2-(4-氯-6-甲基-2-嘧啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(6-氯-3-硝基-2-嘧啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(2-氯-5-硝基-4-嘧啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(4,6-二氯-2-嘧啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(4,6-二氯-5-嘧啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(4,6-二羟基-2-嘧啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(2,6-二羟基-4-嘧啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(2,4-二羟基-5-嘧啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(4,6-二硫基-2-嘧啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(6-羟基-2-硫基-4-嘧啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(6-羟基-2-甲基硫基-4-嘧啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(4-羟基-6-甲基-2-嘧啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(2-羟基-5-甲基-4-嘧啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(1-苯并吡唑基并(3,4-d)嘧啶-4-基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(吡唑并(3,4-d)嘧啶-4-基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(6-羟基吡唑并(3,4-d)嘧啶-4-基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(6-硫基吡唑并(3,4-d)嘧啶-4-基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(2-羟基-4-嘧啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(4-氯-2-苯并噻唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(4-甲氧基-2-苯并噻唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(6-甲氧基-2-苯并噻唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(4-甲基-2-苯并噻唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,

2-(2-甲基-5-苯并噻唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(6-硝基-2-苯并噻唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(6-溴-2-苯并噻唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(5,6-二甲基-2-苯并噻唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(6-乙氧基-2-苯并噻唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
6-甲基-2-(2-噻唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
6-氯-2-(2-噻唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
6-甲氧基-2-(2-噻唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
5-硝基-2-(2-噻唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
5-氯-2-(2-噻唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
7-甲氧基-2-(2-噻唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
6,7-亚甲二氧基-2-(2-噻唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(4-甲基-2-噻唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(5-硝基-2-噻唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(2-噻唑啉基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(5-氯-2-噻唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(3-甲基-5-异噻唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(2-咪唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(5-乙氧基羰基-2-咪唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(3-吡唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(4-氰基-5-吡唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(4-乙氧基羰基-3-吡唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,

2-(4-乙氧基羰基-2-苯基-3-吡唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(4-氰基-3-吡唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(2-苯基-3-吡唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(1-苯基-5-吡唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(1-苯基-5-吡唑啉酮-3-基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(5-羟基-3-吡唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(1,3,4-噻二唑-2-基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(5-硫基-1,3,4-噻二唑-2-基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(5-甲基-1,3,4-噻二唑-2-基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(5-三氟甲基-1,3,4-噻二唑-2-基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(5-叔丁基-1,3,4-噻二唑-2-基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(2-吡嗪基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(2-羧基-3-吡嗪基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(2-哒嗪基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(2-苯并咪唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(5,6-二甲基-2-苯并咪唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(5-苯并三唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(7-氯-1,2,4-苯并三嗪-3-基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(1,2,4-苯并三嗪-3-基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(7-溴-1,2,4-苯并三嗪-3-基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(7-氟-1,2,4-苯并三嗪-3-基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(7-硝基-1,2,4-苯并三嗪-3-基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,

2-(2-苯并噻吩基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(3-苯并噻吩基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(2-噻吩基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(2,1,3-苯并噻二唑-4-基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(1,2,4-三嗪-4-基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(2,6-二硫基-1,3,5-三嗪-4-基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(5,6-二甲基-1,2,4-三嗪-3-基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(5,6-二苯基-1,2,4-三嗪-3-基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(1,2,4-三唑-4-基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2(5-硫基-1,2,4-三唑-3-基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(5-四唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(5-喹啉基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(2-甲基-4-喹啉基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(6-硝基-5-喹啉基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(1,2,3,4-四氢喹啉-8-基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(2-喹啉基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(3-喹啉基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(8-喹啉基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2(6-甲氧基-8-喹啉基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(1-异喹啉基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(5-异喹啉基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(5-吲哚基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,

2-(5-异吲哚)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(5-吲唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(6-氯-3-吲唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮
2-(6-吲唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(7-吲唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(9-乙基-3-卡巴唑)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(2-3,4-二氢咪唑基-2-乙烯基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮
2-(2-吡啶基甲基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(2-呋喃基甲基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-[4-(2-羟亚氨基乙基)]-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮
2-[4-(7-正丁基苯并(1,2-c 二氢呋喃-2-酮))]-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮。

本发明因此还涉及含有作为活性成份的有效剂量的至少一种通式 (I) 化合物和/或其立体异构体以及常规药物赋形剂或辅剂的药物组合物。通常本发明药物组合物含有 0.1-90 重量%的通式 (I) 化合物和/或其生理上可接受的盐。

药物组合物可根据本领域已知的方法制备。用于此目的时，如果需要，可将通式 (I) 化合物和/或立体异构体与一种或多种固体或液体药物赋形剂和/或辅剂结合，制成可作为人药或兽药使用的适当的施用形式或剂量形式。

本发明的通式 (I) 化合物或含有它的药物组合物可以单位剂量形式给药，给药途径可为肠道或非肠道，如口服、静脉、肌肉、皮下、

鼻腔、口腔粘膜、皮肤、腹膜或直肠等。给药剂型例如片剂、胶囊、滴丸、气雾剂、丸剂、粉剂、溶液剂、混悬剂、乳剂、颗粒剂、栓剂、冻干粉针剂等，可以是普通制剂、缓释制剂、控释制剂及各种微粒给药系统。为了将单位给药剂型制成片剂，可以广泛使用本领域公知的各种载体。关于载体的例子是，例如稀释剂与吸收剂，如淀粉、糊精、硫酸钙、乳糖、甘露醇、蔗糖、氯化钠、葡萄糖、尿素、碳酸钙、白陶土、微晶纤维素、硅酸铝等；湿润剂与粘合剂，如水、甘油、聚乙二醇、乙醇、丙醇、淀粉浆、糊精、糖浆、蜂蜜、葡萄糖溶液、阿拉伯胶浆、明胶浆、羧甲基纤维素钠、紫胶、甲基纤维素、磷酸钾、聚乙烯吡咯烷酮等；崩解剂，例如干燥淀粉、海藻酸盐、琼脂粉、褐藻淀粉、碳酸氢钠与枸橼酸、碳酸钙、聚氧乙烯山梨糖醇脂肪酸酯、十二烷基磺酸钠、甲基纤维素、乙基纤维素等；崩解抑制剂，例如蔗糖、三硬脂酸甘油酯、可可脂、氢化油等；吸收促进剂，例如季铵盐、十二烷基硫酸钠等；润滑剂，例如滑石粉、二氧化硅、玉米淀粉、硬脂酸盐、硼酸、液体石蜡、聚乙二醇等。还可以将片剂进一步制成包衣片，例如糖包衣片、薄膜包衣片、肠溶包衣片，或双层片和多层片。为了将给药单元制成丸剂，可以广泛使用本领域公知的各种载体。关于载体的例子是，例如稀释剂与吸收剂，如葡萄糖、乳糖、淀粉、可可脂、氢化植物油、聚乙烯吡咯烷酮、Gelucire、高岭土、滑石粉等；粘合剂，如阿拉伯胶、黄蓍胶、明胶、乙醇、蜂蜜、液糖、米糊或面糊等；崩解剂，如琼脂粉、干燥淀粉、海藻酸盐、十二烷基磺酸钠、甲基纤维素、乙基纤维素等。为了将给药单元制成栓剂，可以广泛使

用本领域公知的各种载体。关于载体的例子是，例如聚乙二醇、卵磷脂、可可脂、高级醇、高级醇的酯、明胶、半合成甘油酯等。为了将给药单元制成胶囊，将有效成分通式 (I) 化合物或其立体异构体与上述的各种载体混合，并将由此得到的混合物置于硬的明胶胶囊或软胶囊中。也可将有效成分通式 (I) 化合物或其立体异构体制成微囊剂，混悬于水性介质中形成混悬剂，亦可装入硬胶囊中或制成注射剂应用。为了将给药单元制成注射用制剂，如溶液剂、乳剂、冻干粉针剂和混悬剂，可以使用本领域常用的所有稀释剂，例如，水、乙醇、聚乙二醇、1, 3-丙二醇、乙氧基化的异硬脂醇、多氧化的异硬脂醇、聚氧乙烯山梨醇脂肪酸酯等。另外，为了制备等渗注射液，可以向注射用制剂中添加适量的氯化钠、葡萄糖或甘油，此外，还可以添加常规的助溶剂、缓冲剂、pH 调节剂等。

此外，如需要，也可以向药物制剂中添加着色剂、防腐剂、香料、矫味剂、甜味剂或其它材料。

本发明通式 (I) 化合物或其立体异构体的给药剂量取决于许多因素，例如所要预防或治疗疾病的性质和严重程度，患者或动物的性别、年龄、体重及个体反应，所用的具体化合物，给药途径及给药次数等。通常对体重约 75 公斤患者，所给通式 (I) 化合物的日剂量为 0.001mg/kg 体重-100mg/kg 体重，优选 0.01mg/kg 体重-20mg/kg 体重，更优选是 0.1mg/kg 体重-5mg/kg 体重。上述剂量可以单一剂量形式或分成几个，例如二、三或四个剂量形式给药。

附图说明

图 1. Amiloride 对豚鼠心室肌细胞正反向 Na^+ - Ca^{2+} 交换电流的作用

图 2. KB-R7943 对豚鼠心室肌细胞正反向 Na^+ - Ca^{2+} 交换电流的作用

图 3. IMM-001 对豚鼠心室肌细胞正反向 Na^+ - Ca^{2+} 交换电流的作用

图 4. 各给药组犬急性心肌缺血程度 (Σ -ST) 的比较, 心外膜电图标测。

图 5. 各给药组对犬急性心肌梗塞范围的影响

图 6. 各给药组犬血清肌酸激酶 (CK) 的比较

图 7. 各给药组犬乳酸脱氢酶 (LDH) 的比较

图 8. 各给药组犬血清谷草转氨酶 (AST) 变化的比较

图 9. 各给药组犬冠脉血流量变化比较

图 10. 各给药组犬静脉血氧含量变化比较

图 11. IMM-004 对大鼠心肌缺血/再灌左心室收缩压 (LVSP) 的影响

图 12. IMM-004 对大鼠心肌缺血/再灌左心室舒张末压 (LVEDP) 的影响

图 13. IMM-004 对大鼠心肌缺血/再灌动脉收缩压 (SBP) 的影响

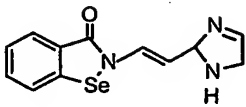
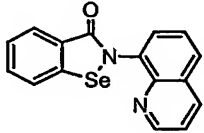
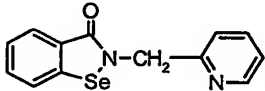
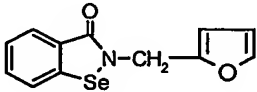
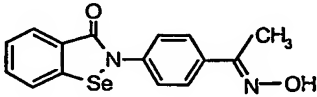
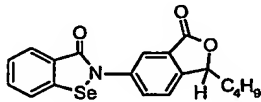
图 14. IMM-004 对大鼠心肌缺血/再灌左心室等容期压力最大变化速率 ($\pm dp/dt_{\max}$) 的影响

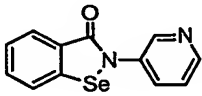
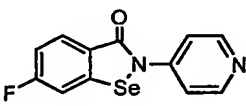
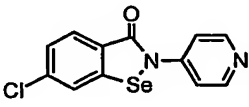
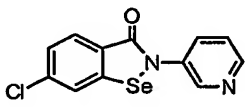
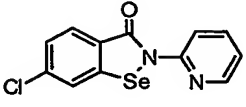
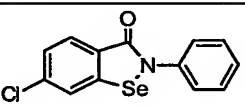
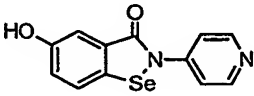
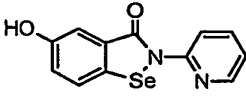
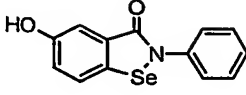
图 15. IMM-004 对大鼠心肌缺血/再灌平均动脉压 (MAP) 的影响

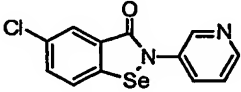
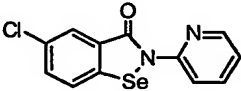
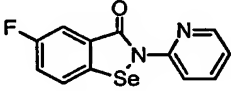
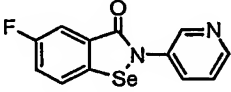
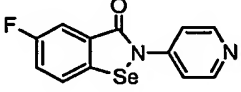
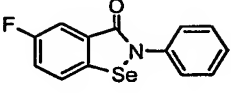
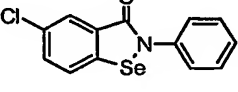
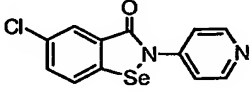
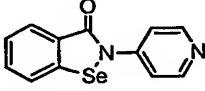
具体实施方式

下面的实施例及制备例用来进一步说明本发明，但这并不意味着对本发明的任何限制。

实施例化合物编号

序号	结构式	命名	化合物编号
1		2-(2-3,4-二氢咪唑基-2-乙烯基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮	IMM-002
2		2-(8-喹啉基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,	IMM-003
3		2-(2-吡啶基甲基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,	IMM-058
4		2-(2-呋喃基甲基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,	IMM-059
5		2-[4-(2-羟亚氨基乙基)]-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮	IMM-065
6		2-[4-(7-丁基苯并(1,2-c)二氢呋喃-2-酮)]-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮	IMM-623

7		2-(3-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮	IMM-030
8		6-氟-2-(4-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮	IMM-165
9		6-氯-2-(4-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮	IMM-313
10		6-氯-2-(3-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮	IMM-141
11		6-氯-2-(2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮	IMM-142
12		6-氯-2-苯基-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮	IMM-143
13		5-羟基-2-(4-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮	IMM-161
14		5-羟基-2-(2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮	IMM-163
15		5-羟基-2-苯基-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮	IMM-164

16		5-氯-2-(3-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑 -3(2H)-酮	IMM-125
17		5-氯-2-(2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑 -3(2H)-酮	IMM-004
18		5-氟-2-(2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑 -3(2H)-酮	IMM127
19		5-氟-2-(3-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑 -3(2H)-酮	IMM-128
20		5-氟-2-(4-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑 -3(2H)-酮	IMM-129
21		5-氟-2-苯基-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮	IMM-130
22		5-氯-2-苯基-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮	IMM-131
23		5-氯-2-(4-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑 -3(2H)-酮	IMM-132
24		2-(4-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮	IMM-001

Na^+ - Ca^{2+} 交换蛋白是可兴奋细胞膜上一种重要的双向离子转运蛋白，它的主要功能是排出细胞兴奋过程中进入细胞内的 Ca^{2+} ，使细胞内 Ca^{2+} 恢复到静息状态水平。在每排出 1 个 Ca^{2+} 的同时，转入细胞内 3 个 Na^+ ，因此有一个净电荷的跨膜移动，产生跨膜电流。心肌缺血再灌的初期，细胞膜的损伤导致膜电位异常，膜通透性改变，使大量的 Na^+ 进入细胞，此时 Na^+ - Ca^{2+} 交换反向转运被激活，引起细胞内 Ca^{2+} 超载，从而加重细胞的损伤及死亡。因而 Na^+ - Ca^{2+} 交换反向转运被认为是缺血/再灌引起严重不良后果的重要机制。国内外至今尚无特异性阻断 Na^+ - Ca^{2+} 交换反向转运的药物。我们采用细胞水平的病理模型所进行的新药筛选工作及相应的离体、整体实验研究，为确定先导化合物，研制开发作用于 Na^+ - Ca^{2+} 交换这一潜在的、重要的药物作用靶点的细胞保护药物，提供了重要的理论和实际指导。

1. Na/Ca 交换双向转运电流测定方法的建立

由于 Na^+ - Ca^{2+} 交换反向转运是造成缺血再灌损伤的主要原因之一，因而建立 Na^+ - Ca^{2+} 交换反向转运的细胞模型对研制缺血损伤保护药物有重要意义。我们借助微电极向细胞内透析 Na^+ 的方法，成功建立了 Na^+ - Ca^{2+} 交换反向转运模型，并用膜片钳方法稳定记录了这一电流。

在电极内灌注一定浓度的 NaCl ，形成膜片钳全细胞记录后电极内液与细胞内液发生离子交换，电极内液中的 Na^+ 进入细胞内，使胞内形成高 Na^+ 状态。将细胞钳制在 -40 mV，先去极化至 +60 mV，再

给以持续 2 s 速度为 $80 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ 的斜坡刺激，复极化至 -100 mV ，频率为 0.05 Hz 。在该刺激条件下，用双向离子条件台氏液（即可同时记录内、外向电流的离子条件）灌流，同时为了减少其他电流成分的干扰，实验时，台式液中加入： BaCl_2 $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 CsCl $2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 阻断钾通道， verapamil $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 阻断 L-型钙通道， ouabain $20 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 阻断 $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATP 酶。并在电极内液中加入 $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 TEA 阻断钾通道。记录到一个由外向到内向的电流，在其它时间依赖性的电流都被阻断的情况下，记录到的电流几乎呈线性。随着胞内 Na^+ 的进一步增加和时间的延长，可进一步激活 $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$ 交换的反向转运，使该电流的外向成份显著增加。我们用不同浓度的 Na^+ ，即 0，15，25 和 $35 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 进行比较，最后选择了 $25 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NaCl}$ 进行透析，作为该模型的固定方法。在该条件下，细胞破膜后约 3min，可使反向转运电流达到最大，持续记录 8min，未观察到明显的“衰减” (run-down) 现象。此时运用 $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Ni}^{2+}$ 可显著抑制该电流的外向成分和内向成分，用 Ni^{2+} 前后记录到的两条电流-电压曲线相减，得到单纯的对 Ni^{2+} 敏感的电流即生电性 $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$ 交换电流 ($I_{\text{Na-Ca}}$)。 $I_{\text{Na-Ca}}$ 的反转电位在 -20 mV 左右。

用上述电生理模型对我所合成化合物进行筛选。发现新化合物 IMM-001 可选择性阻断 Na^+ 超载引起的 $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$ 交换反向转运。与常用的 $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$ 交换阻断剂 Amiloride 比较，作用明显强于后者， Amiloride 从 $10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 开始起效， $10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 出现明显作用，而 IMM-001 10^{-7} 至 $10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 均有非常明显的作用。

1996 年, 有报道一种新合成的 Isothiourea 衍生物 KB-R7943 对 Na^+ - Ca^{2+} 交换有选择性抑制作用, 且抑制作用明显。自此, KB-R7943 一直被认为是最新的高效特异的 Na^+ - Ca^{2+} 交换反向转运抑制剂而广泛用于药理学研究。但在他们的实验中, 均人为地控制离子条件, 使仅能选择性地记录到内、外向电流中的一种成分, 这种单向离子条件, 不符合生理、病理条件下, 同时出现内、外向 $I_{\text{Na-Ca}}$, 即所谓双向离子条件的实际情况。我们用前述模型观察比较了 KB-R7943 对 $I_{\text{Na-Ca}}$ 的抑制作用, 发现 KB-R7943 在抑制 Na^+ - Ca^{2+} 交换反向转运的同时, 还抑制 Na^+ - Ca^{2+} 交换的正向转运, 选择性差。

据此, 确定以 IMM-001 为母核, 开发研制特异性更强, 选择性更高的 Na^+ - Ca^{2+} 交换反向转运抑制剂。

2. 具体步骤:

2.1 单个豚鼠心室肌细胞的制备

雄性豚鼠, 体重 250~280 g, 由中国医学科学院动物中心提供, 击昏、颈动脉放血后, 迅速开胸, 取出心脏, 在 4 °C 无钙液 (Ca^{2+} -free solution) 中去除脂肪组织和心包膜, 进行 Langendorff 灌流。具体过程: 首先用无钙液经主动脉逆行灌流 6 min, 使心脏内的残血彻底排尽, 心脏膨大, 呈粉红色时再用含有链霉蛋白酶 E (pronase E) 0.1 mg/ml, 脱脂牛血清白蛋白 (BSA) 0.5 mg/ml, Ca^{2+} 浓度为 150 μM 的无钙液 (酶液) 灌流 2~3 min, 至心脏完全膨大松软后停止灌流。去除心房, 将心室肌剪碎, 用酶液 37 °C 温孵搅拌 5~10 min, 倒出上清

液,用无钙液稀释 5 倍,其中含有 BSA 0.5 mg/ml, Ca^{2+} 浓度为 1.8 mM, 室温下 (20~24 °C) 静置 1 h 后开始实验。在整个灌流过程中, 压力维持在 70 cm 水柱, 37 °C 恒温, 持续通 95 %的 O_2 和 5 %的 CO_2 混合气。

2.2 膜片钳全细胞记录

选取杆状、横纹清晰、膜良好的细胞进行实验。细胞池体积约 1 ml, 平放在连有微操纵器 (MO-303) 的倒置显微镜 (Olympus IMT-2) 上, 细胞充分贴壁后, 用台氏液 (Tyrode's solution) 灌流, 速度约为 1~2 ml/min。电极用玻璃毛细管(中科院上海脑所)经微电极拉制仪 (PP-83) 分两步拉制, 充灌电极液后电阻为 2~4 M Ω 。膜片钳全细胞记录过程中, 刺激脉冲的产生和信号采集均由 pCLAMP5.5.1 软件 (Axon Instrument) 完成, 离子通道电流通过膜片钳放大器 (L/M EPC-7) 放大, 经 AD/DA 转换板 (Axon TL-1) 输入计算机。

记录 Na^+ - Ca^{2+} 交换电流 ($I_{\text{Na-Ca}}$) 时, 细胞钳制在 -40 mV, 给予从 +60 mV 复极化至 -100 mV、速度为 80 mV/s 持续 2 s 的反向斜坡脉冲 (declining ramp pulse), 刺激频率为 0.05 Hz。由于刺激形式是缓慢复极化的斜坡脉冲, 因此细胞膜电容和串联电阻无需补偿。同时, 为了减少其它电流成分的干扰, 实验时台氏液中加入: ouabain 20 μM 以阻断生电性 Na^+ - K^+ -ATP 酶; BaCl_2 1 mM 和 CsCl 2 mM 阻断钾离子通道电流; verapamil 1 μM 阻断 L 型钙电流; 电极内液中 20 mM 的 TEA 也可以阻断钾离子通道电流。电极内液中高浓度的 EGTA (42 mM) 和 CaCl_2 (29 mM) 根据 Fabiato & Fabiato 公式计算得胞内游离

Ca^{2+} 浓度为 153 nM。生电性的双向 Na^{+} - Ca^{2+} 交换电流可被细胞外高浓度的 Ni^{2+} (2 或 5 mM) 特异性阻断, 用 Ni^{2+} 前后的电流相减所得的电流曲线即 Na^{+} - Ca^{2+} 交换电流 ($I_{\text{Na-Ca}}$)。为了排除因细胞体积大小不同而对电流值造成的影响, 我们用电流密度 (pA/pF) 来表示电流值的大小, 所有实验均在 31 °C~32 °C 之间进行。

2.3 药品配置

无钙液 (Ca^{2+} -free solution) 成分 (mM): NaCl 90, KCl 10, KH_2PO_4 1.2, MgSO_4 5, NaHCO_3 15, taurine 30, glucose 20, 用 1N 的 NaOH 调 pH 值至 7.4

正常台氏液 (normal Tyrode's solution) 成分 (mM): NaCl 150, KCl 5.4, MgCl_2 2, CaCl_2 1.8, HEPES 5, Glucose 10, 用 1N NaOH 调 pH 值至 7.35

记录 Na^{+} - Ca^{2+} 交换电流的台氏液成分 (mM): NaCl 140, MgCl_2 2, CaCl_2 1.8, HEPES 5, Glucose 10, 用 1N CsOH 调 pH 值至 7.4

正常电极液 (normal pipette solution) 成分 (mM): KCl 140, MgCl_2 0.5, EGTA 10, HEPES 10, 1 N KOH 调 pH 值至 7.2

记录 Na^{+} - Ca^{2+} 交换电流的电极液成分 (mM): EGTA 42, CaCl_2 29, MgCl_2 13, Aspartic acid 42, TEA 20, HEPES 5, Na_2ATP 5, 1N 的 CsOH 调 pH 至 7.4。实验时, 根据电极内液中不同的 Na^{+} 浓度, 分别加入 NaCl 5, 15 和 25 mM, 使电极液中的 Na^{+} 浓度达到所要求的 15, 25 和 35 mM。

所有溶液均用双蒸水配制，无钙液和台氏液每次用时新鲜配制，电极内液配好后，用 $0.22\ \mu\text{m}$ 的微孔滤膜过滤，分装于 Eppendorf 管，冻存备用。

2.4 统计学分析

用 pCLAMP 5.5.1 和 pCLAMP 6.0.1 软件对原始电流图进行测量分析，所有数据均为 $\text{Mean} \pm \text{SE}$ 表示， n 表示细胞数；配对和组间 t 检验， $P < 0.05$ 认为差异有显著性。

细胞水平筛选结果

1. 正常 Na^+ - Ca^{2+} 交换电流的记录

将细胞钳制在 $-40\ \text{mV}$ ，先去极化至 $+60\ \text{mV}$ ，再给以持续 $2\ \text{s}$ 速度为 $80\ \text{mV/s}$ 的反向斜坡刺激，复极化至 $-100\ \text{mV}$ ，刺激频率为 $0.05\ \text{Hz}$ 。在该刺激条件下，用台氏液灌流时，记录到一个由外向到内向的电流-电压关系曲线 (I - V curve)，由于其它时间依赖性的电流都被阻断，因此记录到的电流几乎呈线性。在细胞外应用 $5\ \text{mM}$ 的 Ni^{2+} 时，该电流的外向成分和内向成分显著减小，用 Ni^{2+} 前后记录到的两条电流-电压曲线相减，得到对 Ni^{2+} 敏感的电流即生电性 Na^+ - Ca^{2+} 交换电流 (Na^+ - Ca^{2+} exchange current, $I_{\text{Na-Ca}}$)

2. Amiloride、KB-R7943 和 IMM-001 对 Na^+ - Ca^{2+} 交换电流的抑制作用的比较

我们比较了 $\text{Na}^+\text{-H}^+$ 交换抑制剂 Amiloride 和近年来常作为工具药使用的 $\text{Na}^+\text{-Ca}^{2+}$ 交换反向转运抑制剂 2-[2-[4-(4-nitrobenzyloxy)phenyl]]isothiourea (KB-R7943) 及新化合物 IMM-001, 对 $\text{Na}^+\text{-Ca}^{2+}$ 交换电流的作用。研究发现在 + 50 mV 时, Amiloride 10, 30 和 100 μM 对 $I_{\text{Na-Ca}}$ 的抑制率分别是 15 %, 23 % 和 41 %, - 80 mV 时的抑制率则分别是 6 %, 15 % 和 23 %。说明 Amiloride 对外向 $I_{\text{Na-Ca}}$ 的抑制作用更明显; 在 + 50 mV 时, KB-R7943 1 , 和 10 μM 对 $I_{\text{Na-Ca}}$ 的抑制率分别是 29 % 和 61 %, - 80 mV 时的抑制率则分别是 22 % 和 57 %。说明 KB-R7943 在双向离子条件下对内、外向 $I_{\text{Na-Ca}}$ 无选择性; IMM-001 0.10, 1 和 10 μM , 对外向 $I_{\text{Na-Ca}}$ 的抑制率在 + 50 mV 时分别是 28 %, 48 % 和 66 %, 对内向 $I_{\text{Na-Ca}}$ 的抑制率在 -80 mV 时则分别是 15 %, 24 % 和 42%, IMM-001 对外向 $I_{\text{Na-Ca}}$ 的抑制作用明显强于其对内向 $I_{\text{Na-Ca}}$ 的抑制作用。结果表明 Amiloride 在低浓度时对内、外向电流几乎没有作用, KB-R7943 在阻断外向电流的同时, 对内向电流也有抑制, 而影响正常的排 Ca^{2+} 功能, IMM-001 不仅在三者中抑制作用最强, 而且选择性作用于外向电流。相对于其它化合物, IMM-001 的作用靶点比较专一, 选择性高。有利于抑制缺血/再灌时的钙超载和由此造成的心肌损伤。见图 1、图 2 和图 3。

3. 二十二种 IMM-001 结构优化剂候选药物对心肌 $\text{Na}^+\text{-Ca}^{2+}$ 交换电流的作用比较及筛选

因为 IMM-001 比 KB-R7943 和 Amiloride 选择性更高, 抑制外向 Na^+ - Ca^{2+} 交换电流作用更强, 我所药化室以 IMM-001 为母核, 合成了 22 个化合物, 用上述膜片钳方法, 建立胞内 Na^+ 负荷模型、激活 $I_{\text{Na-Ca}}$, 以 IMM-001 为阳性对照药, 比较这些化合物对 Na^+ - Ca^{2+} 交换电流的抑制作用, 以期找到比 IMM-001 更好的选择性作用于外向 Na^+ - Ca^{2+} 交换电流的化合物。结果见下表

表.22 个候选化合物对 Na^+ - Ca^{2+} 交换电流的抑制作用

化合物归档号	n	外向 $I_{\text{Na-Ca}}$ 抑制率(%)	内向 $I_{\text{Na-Ca}}$ 抑制率(%)
IMM-002	5	32*	34
IMM-003	6	22	—
IMM-004*	3	52*	44
IMM-058	5	3	—
IMM-059	6	8	15
IMM-065*	6	55*	43
IMM-623	4	11	15
IMM-030	4	12	17
IMM-313*	3	50*	28
IMM-141	4	—	2
IMM-142	3	46	57
IMM-143	3	—	—
IMM-161	3	—	—
IMM-163	4	14	19
IMM-164	4	8	22
IMM-125	3	35	14
IMM-127*	5	43*	21
IMM-128*	3	44*	42
IMM-129*	3	59*	57*
IMM-130	3	30	43
IMM-131	3	22	15

IMM-132*	3	44*	14
----------	---	-----	----

* $P < 0.05$

在围绕 IMM-001 合成的 22 个化合物中，经电生理(心肌细胞水平)筛选，找到 7 个活性更高的化合物，它们对外向 Na-Ca 交换的抑制作用强于内向抑制，具有特异。

实施例 1：离体实验

(1) 心肌细胞水平的 Na/Ca 交换抑制作用

用本所药理室的特异性方法直接研究细胞水平 Na/Ca 交换正向及反向转运作用，发现上述化合物均有一定的抑制 Na/Ca 交换反向转运的作用，抑制率 40%以上的为作用较强化合物，作用最强着接近 60% ，见下表。

化合物代号	外向 I_{Na-Ca} 抑制率 (%)	内向 I_{Na-Ca} 抑制率 (%)
IMM-065	55	43
IMM-313	50	28
IMM-004	52	44
IMM-127	43	21
IMM-128	44	42
IMM-129	59	57
IMM-132	44	14

(2) 离体心脏缺血/再灌注损伤的保护作用

根据前期电生理细胞模型筛选的结果, 从22个待选化合物中, 经对Na/Ca 交换反向转运产生的外向电流的抑制率的比较, 挑选出7个相对好的化合物进行离体实验, 即结构式中含CL元素的IMM-313, IMM-004, IMM-132; 结构式中含F元素的IMM-127, IMM-128, IMM-129, 以及含OH的IMM-065。实验采用大鼠离体心脏缺血再灌注(I/R) 损伤模型。以心律失常的持续时间, 室早, 室速和室颤的发生率作为心肌损伤的指标, 观察化合物的心肌保护作用。结果如表所示:

化合物 (10-6M)	n	时间(min)	发生率(%)		
		AAT	VPS	VT	VF
Control	13	28.23±1.70	62	69	77
IMM-313	10	1.67±0.70**	20*	30	30*
IMM-004	8	0.70±0.33**	37.5	37.5	0**
IMM-127	8	19.72±4.42	50	62.5	38
IMM-128	8	22.10±3.49	25	50	50
IMM-129	8	23.67±3.87	37.5	75	63
IMM-132	7	29.13±0.69	28.6	85.7	85.7
IMM-065	10	13.09±3.76**	30	70	50

AAT: 出现时间 VPS: 室性早搏次数 VT: 室速 VF: 室颤

*p<0.05, **p<0.01 与对照组比较

结论: IMM-313 和 IMM-004 及 IMM-065 在浓度为 10^{-6} 时, 有显著心肌保护作用.

实施例 2：在体实验

(1) 大鼠静脉注射给药的心肌保护作用

- 1) Verapamil 股静脉注射 0.3mg/Kg, 可显著性延长缺血一再灌注心律失常的潜伏期, 缩短心律失常的持续时间, 降低 VT、VF 和 VE 的发生率, 缩短 VF 的持续时间。
- 2) IMM-001 股静脉注射 3mg/Kg, 可显著性缩短心律失常的持续时间, 降低 VT、VF 的发生率, 缩短 VT 和 VF 的持续时间。
- 3) IMM-004 股静脉注射 3mg/Kg, 可显著性延长缺血一再灌注心律失常的潜伏期, 降低 VT、VF 和 VE 的发生率, 缩短 VT 和 VF 的持续时间。
- 4) IMM-313 股静脉注射 3mg/Kg 后 5min 内(冠脉左前降支结扎前), 41.2% (7/17) 的大鼠心律显著减慢, 且不可恢复, 最后死亡。其余有效数据经统计, 未观察到明显作用。
- 5) IMM-065 股静脉注射 3mg/Kg 未观察到明显作用。
- 6) IMM-127 股静脉注射 3mg/Kg, 可显著性延长缺血一再灌注心律失常的潜伏期, 降低 VT 和 VF 的发生率, 缩短 VT 和 VF 的持续时间。

大鼠静脉注射 3mg/kg 上述化合物, 对冠状动脉缺血再灌注损伤有明显的保护作用。以心脏损伤后出现心律失常的程度作为评价指标。

静脉注射本发明化合物对麻醉大鼠心脏缺血/再灌注心律失常的保护作用

组 别	n	出现时间 (s)	持续时间 (s)	VT		VF		VE
				发生率 (%)	持续时间 (s)	发生率 (%)	持续时间 (s)	发生率 (%)
control	14	4.0±4.1	23.0±10.7	100	8.2±6.1	35.7	3.3±5.7	100
Verapamil (0.3mg/Kg)	11	29.1±29.7*	11.8±12.1*	54.5**	5.4±7.0	0*	0*	63.6*
IMM-001 (3mg/Kg)	9	13.2±18.2	11.8±9.1*	66.7*	3.8±3.6*	0*	0*	88.9
IMM-004 (3mg/Kg)	12	20.8±24.2*	16.1±12.1	66.7*	3.8±4.0*	0*	0*	75*
IMM-313 (3mg/Kg)	8	7.0±8.2	24.0±16.5	87.5	5.9±7.5	25	2.2±4.4	100
IMM-065 (3mg/Kg)	7	10.9±22.0	25.5±17.8	85.7	10.9±11.2	14.3	0.1±0.2	85.7
IMM-127 (3mg/Kg)	11	12.4±10.0*	18.5±8.9	72.7*	3.8±2.9*	0*	0*	100

VT: 室速

VF: 室颤

VE: 室早

*P<0.05, **P<0.01 与对照组比较

(2) 大鼠口服给药的心肌缺血保护作用

化合物 IMM-004, IMM-127 溶于乙醇: PEG (体积比) = 1: 9 的溶剂中, 并以该溶剂为对照组, 灌胃容积均为 10ml/Kg, 灌胃后 60min 时结扎冠状动脉左前降支造成心脏缺血, 15min 后实现再灌注。

1) IMM-004

口服 10mg/Kg, 未观察到明显的保护作用。

口服 30mg/Kg, 可显著性缩短缺血-再灌注心律失常 ($P < 0.01$) 的持续时间, 降低 VT ($P < 0.01$) 和 VF ($P < 0.05$) 的发生率, 缩短 VT ($P < 0.01$) 的持续时间。

口服 100mg/Kg, 可显著性缩短缺血-再灌注心律失常 ($P < 0.05$) 的持续时间, 降低 VT ($P < 0.05$) 的发生率, 缩短 VT ($P < 0.01$) 的持续时间。

2) IMM-127

口服 10mg/Kg, 可显著性缩短 VT ($P < 0.05$) 的持续时间。

口服 30mg/Kg, 可显著性缩短缺血-再灌注心律失常 ($P < 0.01$) 的持续时间, 降低 VF ($P < 0.05$) 的发生率, 缩短 VT ($P < 0.01$) 和 VF ($P < 0.05$) 的持续时间。

口服 100mg/Kg, 可显著性降低 VT ($P < 0.05$), 缩短 VT ($P < 0.01$) 的持续时间。

大鼠口服给药 10、30、100mg/kg 上述化合物, 对冠状动脉缺血再灌注损伤有明显的保护作用。以心脏损伤后出现心律失常的程度作为评价指标,

结论：以上实验证明，该类化合物静脉注射和口服，对心脏缺血损伤均有保护作用。

口服 IMM-004, IMM-127 对麻醉大鼠心脏缺血—再灌心律失常的保护作用

组别	n	出现时间 (s)	持续时间 (s)	VT		VF		VE 发生率 (%)
				发生率 (%)	持续时间 (s)	发生率 (%)	持续时间 (s)	
control	17	5.0±6.7	41.6±15.2	94.1	15.4±11.9	52.9	3.9±7.0	94.1
IMM-004 (10mg/Kg)	9	9.3±10.0	30.2±17.6	88.9	8.8±7.4	22.2	4.7±12.9	100
IMM-004 (30mg/Kg)	9	19.6±24.1	17.0±12.6* *	44.4**	3.3±5.7**	11.1*	0.4±1.3	66.7
IMM-004 (100mg/Kg)	9	16.4±25.1	22.7±19.4*	55.5*	3.9±6.8**	33.3	5.5±10.2	66.7
IMM-127 (10mg/Kg)	9	15.5±21.5	32.1±26.1	66.7	6.6±7.2*	22.2	2.5±6.4	100
IMM-127 (30mg/Kg)	9	9.6±9.2	18.0±11.4* *	66.7	3.2±5.5**	11.1*	0.2±0.5*	100
IMM-127 (100mg/Kg)	9	9.0±19.7	31.1±21.3	44.4**	5.1±7.8*	22.2	2.2±6.3	88.9

实施例 3：改善麻醉犬心肌缺血的作用

本实验采用心外膜电图标测心肌缺血范围及程度，定量组织学(N-BT 染色法)测定心肌梗塞范围,同时测定冠脉血流量、心肌耗氧量及血清 CK、LDH、AST 和血浆 ET、TXB₂、6-Keto-PGF₁α 活性的变化，研究了 IMM-004 消化道（十二指肠）给药对实验性犬急性心肌缺血、心肌梗塞及相关指标的影响。

实验分①空白对照组，聚乙二醇 1ml/kg，n=5；②合心爽组，5mg/kg，n=5；③IMM-004 30mg/kg 剂量组，n=5。试验药物用蒸馏水配制成同体积（1ml/kg），经十二指肠给药。

（1） 减少梗塞面积和心肌缺血损伤的作用

1) 对心肌缺血程度(Σ -ST)的影响

对照组聚乙二醇药后心肌缺血程度(Σ -ST)无明显变化；钙拮抗剂合心爽药后 90min 可降低 Σ -ST，可持续至药后 180min。经十二指肠给入 IMM-004 30mg/kg 剂量组有明显减轻心肌缺血程度(Σ -ST)的作用，药后 180min Σ -ST 由药前 325.20 ± 55.95 mv 降至 146.80 ± 60.25 mv，下降了 $53.90 \pm 20.60\%$ ，与药前及对照组比较均有显著性差异 ($P < 0.01$)。见图 4。

心外膜电图（EEG）标测的实验结果表明，IMM-004 对实验性急性犬心肌缺血有明显的改善作用，可显著减轻心肌缺血程度(Σ -ST)，减小心肌缺血范围(N-ST)。

2) 对犬急性心肌梗塞范围(N-BT 染色法测定)的影响。

各给药组对犬急性心肌梗塞范围的影响(n=5, $\bar{x} \pm SD$)

组别	剂量 /kg	心脏面积 mm ²	心室面积 mm ²	梗塞区面积 mm ²	梗塞区/心脏	梗塞区/心室
聚乙二醇	1ml	12476.8±64.3	5483.0±405.3	861.80±70.2	6.62±1.14	15.85±1.01
合心爽	5mg	15185.8±876.8	5309.6±427.4	186.50±21.2***	1.54±0.40***	3.54±3.74***
IMM-004	30mg	17098.9±3224.4	5274.3±832.6	255.70±58.2***	2.04±0.93***	5.08±2.00***

注：与对照组比较：*P<0.05，**P<0.01，***P<0.001。

以定量组织学 N-BT 染色法显示心肌梗塞范围，聚乙二醇对照组动物心肌梗塞区分别占心脏及心室的 6.62±1.14% 和 15.85±1.01%；阳性对照药合心爽及 IMM-004 可明显减少动物心肌梗塞区面积，30mg/kg 组心肌梗塞区面积分别占心脏及心室的 2.04±0.93%、5.08±2.00%，分别较聚乙二醇对照组降低了 69.18% 和 67.94%，与对照组比较均有显著性差异(P<0.001)。见图 5。

3) 对实验性心肌缺血犬血液生化学指标的影响（血清肌酸激酶（CK）及乳酸脱氢酶(LDH)活性）

结扎冠脉形成急性心肌缺血后，血清中 CK、LDH、AST 含量明显升高，IMM-004 能明显抑制 CK、AST 活性升高的作用，而对 LDH 活性的影响与对照组无明显差异。结果见图 6，7，8。

实验结果证实, IMM-004 具有明显改善犬急性心肌缺血和心肌梗塞的作用, 减轻由心外膜电图标测的心肌缺血程度(Σ -ST), 降低心肌缺血范围(N-ST), 减小经 N-BT 染色所显示的梗塞区。

肌酸激酶(CK)广泛存在于胞浆中, 尤以心肌细胞为多。当心肌细胞损伤时 CK 溢出, 使其在血清中活性提高, 血清 CK 活性越高, 反映心肌损伤越重。乳酸脱氢酶(LDH)在心肌梗塞时从组织细胞内大量释放于体液中, 测定冠状静脉窦血中其活性, 亦反映心肌损伤的程度。本实验观察到持续结扎犬冠状动脉 CK 和 LDH 活性持续增加。实验观察到 IMM-004 可明显抑制 CK 活性升高的作用。同时研究发现, 心肌细胞损伤时, 心肌细胞功能酶 AST 释放量明显增加, 而 IMM-004 可明显抑制 AST 的释放。

(2) 扩张冠状动脉血管的作用

1) 对实验性心肌缺血犬冠脉血流量的影响

结扎犬冠状动脉形成心肌缺血后, 冠脉血流量出现短时代偿性增加, 增加幅度 10%左右。合心爽和 IMM-004 药后均有显著增加缺血心脏冠脉血流量的作用, IMM-004 药后 30min 冠脉血流量增加明显, 比药前增加了 $15.02 \pm 22.16\%$, 与对照组组比较, 有明显差异 ($P < 0.05$)。结果见图 9。

2) 对实验性心肌缺血犬动、静脉血氧含量影响

对照组聚乙二醇给药前后动脉、冠状静脉窦血氧含量及心肌耗氧量均无明显改变；合心爽可明显增加静脉窦血氧含量的同时显著降低心肌耗氧量。IMM-004 药后 120min 和 180min 静脉血氧含量明显增加，与药前比较差异明显 ($P<0.05$)。结果见图 10。

由不同病因造成局部冠状动脉狭窄或冠状动脉闭塞形成心肌缺血或心肌梗塞时，其它冠状动脉分支代偿性扩张和开放，可使心肌缺血或心肌梗塞得到缓解。实验观察到 IMM-004 可明显增加心肌缺血和心肌梗塞时的冠脉血流量，表明其可扩张冠脉血管，促进侧支循环的开放，改善缺血心肌的供血。

上述结果表明，IMM-004 可明显改善犬急性心肌缺血和心肌梗塞的病理表现，减轻心肌缺血程度，减小心肌梗塞面积；同时可扩张冠脉血管，增加冠脉血流量；并可抑制 CK 活性升高及 AST 的释放。以上结果与该化合物的药理学作用机理相吻合，即选择性阻断 Na/Ca 交换的反向转运，及由此引起的心肌缺血损伤和扩张冠状动脉，改善心脏供血状况。

实施例 4：改善大鼠心功能和血流动力学作用

(1) 对正常大鼠心功能和血流动力学的影响

方法：取 300-350g 雄性 SD 大鼠，禁食 12 小时，用 20% 的乌拉坦 0.5ml/100g 即 1g/kg ip 麻醉。选用 PE-50 聚乙烯导管行左股动脉和右股动脉插管，左心室插管，左股动脉插管供放血、左股静脉插管供补液给药用，右股动脉插管供测动脉血压用，左心室插管供测左心室压力用，右股动脉和左心室插管通过三通管接压力换能器输入多道生理记录仪及示波器。给药组大鼠灌胃 IMM-004 30mg/kg，对照组灌胃同体积的溶剂（PEG）。分别在给药前 40min 给药后 2h 同步记录左心室收缩压（LVSP）、左心室舒张末压（LVEDP）、（左心室等容期压力最大变化速率（ $\pm dp/dt_{max}$ ）、动脉收缩压（SP）、动脉舒张压（DP）、平均动脉压（MAP）、心率（HR）各项指标，连续观察，每隔 10min 记录一次。

结果：IMM-004 对正常麻醉大鼠左心室收缩压（LVSP）、左心室舒张末压（LVEDP）、（左心室等容期压力最大变化速率（ $\pm dp/dt_{max}$ ）、动脉收缩压（SP）、动脉舒张压（DP）、平均动脉压（MAP）、心率（HR）均无明显影响，说明 IMM-004 对正常大鼠的心功能和血流动力学无影响。IMM-004 组的各项指标同溶剂对照组相比无明显差异，经检验无统计学差异。

结论：IMM-004 对正常大鼠心功能和血流动力学无影响。

(2).改善心肌缺血/再灌大鼠心功能和血流动力学的作用

方法：取 300-350g 雄性 SD 大鼠，禁食 12 小时，用 20%的乌拉坦 0.5ml/100g 即 1g/kg ip 麻醉。选用 PE-50 聚乙烯导管行左股动、静脉和右股动脉插管，左心室插管，左股动脉插管供放血、左股静脉插管供补液给药用，右股动脉插管供测动脉血压用，左心室插管供测左心室压力用，右股动脉和左心室插管通过三通管接压力换能器输入多道生理记录仪及示波器。给药组大鼠灌胃 IMM-004 30mg/kg，对照组灌胃同体积的溶剂 (PEG)。切开气管接呼吸机供开胸后人工呼吸（呼吸量为 2ml/100g）。胸骨左缘第 4-5 肋间剪开胸壁，沿胸骨左缘 2mm 处剪断第 4 和第 5 肋骨，剪开心包膜。轻压胸壁，挤出心脏，用细小弯针在冠状动脉左前降支下穿 3/0 缝线后，将心脏放回胸腔，稳定 10min 后，连同直径 3*8mm 聚乙烯管一起结扎冠脉，压迫造成心脏缺血。15min 后剪断缝线，取出聚乙烯管，恢复冠脉灌注。分别在开胸前、开胸后、缺血 15min 和再灌 1h 同步记录左心室收缩压 (LVSP)、左心室舒张末压 (LVEDP)、(左心室等容期压力最大变化速率 ($\pm dp/dt_{max}$))、动脉收缩压 (SP)、动脉舒张压 (DP)、平均动脉压 (MAP)、心率 (HR) 各项指标，连续观察，每隔 10min 记录一次。

结果：IMM-004 组的 LVSP 从大鼠正常时的 120mmHg 左右降低至 100mmHg 左右，基本保持平稳；对照组则降低至 60.8mmHg，波动较大。对照组 LVEDP 在再灌 10min 后急速上升，表明左心室舒张不全，舒张功能严重受损 (+15mmHg)，IMM-004 组的 LVEDP 基本保持正常 (-6mmHg 左右)，提示 IMM-004 对心肌舒张功能的保护作用

较强。 $+dp/dt_{max}$ 是评价心肌收缩性能的常用指标, IMM-004 组的 $+dp/dt_{max}$ (+110mmHg/s 左右), 降低不明显, 对照组降低较多 (50mmHg/s 左右), 比 IMM-004 组低 54%, 说明给药组的心肌收缩性能受损较小。 $-dp/dt_{max}$ 是心肌舒张参数, 是评价心室舒张功能的重要指标之一。接扎后, 给药组的每一个时相点与对照组比较都有显著性差异。IMM-004 组从 100mmHg/s 降低至 70mmHg/s, 对照组从 100mmHg/s 减低至 30mmHg/s 提示 IMM-004 组大鼠心肌收缩性能下降的同时, 舒张功能保持较好。

由于 IMM-004 能保护心脏功能, 所以能维持较稳定的血压 (SBP100mmHg 左右, MAP80mmHg 左右), 对照组心肌受损严重, 血压降低较多 (SBP80mmHg 左右, MAP60mmHg 左右), 波动也较大。由图可知, 大鼠心肌缺血/再灌后心率下降 (从 461 次/分降至 400 次/分), IMM-004 对大鼠心率无影响, 两组没有显著性差异。见图 11, 12, 13, 14, 15。

结论:大鼠心肌缺血/再灌时心功能受损, 表现为心脏收缩功能舒张功能降低, 血压降低或波动较大, IMM-004 对大鼠的心功能有保护作用, 尤其以心脏舒张功能的改善为显著, 基本维持在正常范围内, 且大鼠血压维持也较稳定, 而 IMM-004 对心肌受损后心率下降无影响。

实施例 5：毒理学实验

(1) Ames (致突变) 实验

我们采用 4 种菌株 (TA97; TA98; TA100; TA102), 共研究了 5 个化合物 (IMM-004; IMM-065; IMM-127; IMM-128; IMM-313), 每组均为 4 个浓度, 即 0.5、5、50 和 500 μ g/皿, 实验结果均为阴性, 说明该类化合物没有致突变作用。结果见下表

IMM-004 的 Ames 试验

菌株 化合物	剂量 ($\mu\text{g}/\text{皿}$)	TA97		TA98		TA100		TA102	
		-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9
Control		59.67 \pm 3.09	64.00 \pm 14.00	70.33 \pm 8.26	40.00 \pm 0	72.00 \pm 15.12	129.50 \pm 6.50	242.00 \pm 8.64	154.67 \pm 57.72
	+S9	138.67 \pm 60.69		76.67 \pm 10.08			195.00 \pm 44.52		248.00 \pm 19.87
IMM-004	500	55.50 \pm 3.50	67.33 \pm 36.59	24.67 \pm 4.71	55.33 \pm 15.92	78.33 \pm 13.52	160.00 \pm 21.33	16.00 \pm 5.89	284.00 \pm 64.27
	50	47.00 \pm 5.72	204.67 \pm 29.41	19.67 \pm 3.29	60.67 \pm 26.64	89.67 \pm 14.70	126.00 \pm 31.79	52.67 \pm 6.59	297.33 \pm 24.07
	5	54.67 \pm 4.99	80.67 \pm 8.58	29.33 \pm 0.94	48.33 \pm 11.95	58.33 \pm 29.39	215.33 \pm 23.68	218.67 \pm 23.79	250.67 \pm 7.54
	0.5	54.33 \pm 4.78	55.33 \pm 24.36	56.33 \pm 1.25	70.67 \pm 6.85	121.00 \pm 8.52	191.33 \pm 44.25	164.67 \pm 62.66	328.67 \pm 26.39

IMM-128 的 Ames 试验

菌株 化合物	剂量 ($\mu\text{g}/\text{皿}$)	TA97			TA98			TA100			TA102		
		-S9	+S9	-S9	-S9	+S9	-S9	-S9	+S9	-S9	-S9	+S9	+S9
Control. +S9		59.67 \pm 3.09	64.00 \pm 14.00	70.33 \pm 8.26	40.00 \pm 0	72.00 \pm 15.12	129.50 \pm 6.50	242.00 \pm 8.64	154.67 \pm 57.72	248.00 \pm 19.87			
		138.67 \pm 60.69			76.67 \pm 10.08								
	500	65.33 \pm 2.35	78.50 \pm 21.50	83.67 \pm 5.79	31.33 \pm 6.24	100.00 \pm 33.67	107.67 \pm 13.47	296.00 \pm 22.86	274.00 \pm 37.98				
	50	59.00 \pm 3.56	60.33 \pm 17.59	71.33 \pm 12.26	56.00 \pm 9.63	135.00 \pm 14.99	141.33 \pm 16.36	210.00 \pm 31.54	333.00 \pm 60.83				
IMM-128	5	52.67 \pm 3.21	63.00 \pm 31.00	69.33 \pm 12.81	46.00 \pm 3.00	116.50 \pm 30.50	149.67 \pm 19.60	270.67 \pm 12.04	234.67 \pm 80.37				
	0.5	59.33 \pm 10.27	70.00 \pm 11.86	64.00 \pm 6.48	40.67 \pm 16.05	127.33 \pm 20.04	167.33 \pm 17.98	214.67 \pm 8.22	277.33 \pm 15.17				

IMM-065 的 Ames 试验

菌株 化合物	剂量 ($\mu\text{g}/\text{皿}$)	TA97			TA98			TA100			TA102		
		-S9	+S9	-S9	-S9	+S9	-S9	-S9	+S9	-S9	-S9	+S9	+S9
Control +S9		59.67 \pm 3.09	64.00 \pm 14.00	70.33 \pm 8.26	40.00 \pm 0	72.00 \pm 15.12	129.50 \pm 6.50	242.00 \pm 8.64	154.67 \pm 57.72				
		138.67 \pm 60.69			76.67 \pm 10.08								
IMM-065	500	59.67 \pm 0.94	抑菌	54.00 \pm 12.83	168.00 \pm 32.00	62.33 \pm 20.53	抑菌	215.00 \pm 75.59	287.33 \pm 41.89				
	50	69.67 \pm 3.77	82.67 \pm 12.92	45.33 \pm 5.44	42.00 \pm 5.72	108.67 \pm 6.79	180.33 \pm 29.83	217.33 \pm 15.43	339.33 \pm 48.99				
	5	73.67 \pm 6.64	76.00 \pm 15.29	42.00 \pm 10.80	61.67 \pm 11.15	60.33 \pm 19.91	167.00 \pm 58.86	246.00 \pm 24.00	308.00 \pm 31.16				
	0.5	62.67 \pm 4.49	249.33 \pm 35.83	52.00 \pm 3.74	56.50 \pm 4.50	153.67 \pm 13.47	176.67 \pm 24.57	244.00 \pm 12.33	270.00 \pm 10.00				

IMM-313 的 Ames 试验

菌株 化合物	剂量 ($\mu\text{g}/\text{皿}$)	TA97		TA98		TA100		TA102	
		-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9
Control +S9 IMM-313		61.33 \pm 6.59	63.33 \pm 6.13	84.33 \pm 5.44	55.00 \pm 5.00	55.67 \pm 7.76	98.67 \pm 24.23	217.67 \pm 27.64	272.00 \pm 14.24
		86.67 \pm 6.94		61.50 \pm 3.50		152.33 \pm 7.36		305.33 \pm 11.47	
	500	33.33 \pm 13.59	0	87.67 \pm 5.25	0	16.5 \pm 0.5	0	177.67 \pm 23.33	0
	50	0	60.00 \pm 7.12	0	47.33 \pm 1.25	0	106.00 \pm 7.48	0	265.33 \pm 15.43
	5	38.33 \pm 13.09	70.33 \pm 4.11	86.50 \pm 5.50	50.33 \pm 5.79	45.67 \pm 6.65	111.33 \pm 7.71	211.33 \pm 18.35	220.00 \pm 28.00
	0.5	47.33 \pm 6.13	64.67 \pm 8.65	100.50 \pm 3.50	49.33 \pm 3.86	68.67 \pm 17.33	99.33 \pm 2.49	215.33 \pm 13.91	250.00 \pm 10.00

IMM-127 的 Ames 试验

菌株 化合物	剂量 ($\mu\text{g}/\text{皿}$)	TA97		TA98		TA100		TA102	
		-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9
Control +S9		61.33 \pm 6.59	63.33 \pm 6.13	84.33 \pm 5.44	55.00 \pm 5.00	55.67 \pm 7.76	98.67 \pm 24.23	217.67 \pm 27.64	272.00 \pm 14.24
		86.67 \pm 6.94		61.50 \pm 3.50		152.33 \pm 7.36		305.33 \pm 11.47	
IMM-127	500	57.33 \pm 6.94	48.00 \pm 2.16	96.00 \pm 4.90	42.67 \pm 5.31	72.33 \pm 23.67	100.67 \pm 4.49	143.67 \pm 19.01	233.33 \pm 16.11
	50	60.33 \pm 3.77	68.50 \pm 2.50	89.00 \pm 10.61	42.33 \pm 7.41	67.67 \pm 22.05	100.00 \pm 6.16	195.33 \pm 35.22	250.67 \pm 15.43
	5	56.67 \pm 13.27	59.67 \pm 8.18	85.00 \pm 5.00	53.00 \pm 5.72	62.00 \pm 10.80	102.67 \pm 21.06	224.67 \pm 16.34	216.00 \pm 21.42
	0.5	60.00 \pm 8.16	60.67 \pm 3.86	93.50 \pm 10.50	73.67 \pm 4.63	83.00 \pm 14.14	95.00 \pm 10.23	199.67 \pm 17.13	205.33 \pm 17.98

(2) 急性毒性实验

以 IMM-004 和 IMM-127 为例进行了急性毒性实验, IMM-004; IMM-127 由本所合成室提供。制剂呈粉状。将制剂分别研磨后加 0.5% 羧甲基纤维素钠溶解。

选雄性昆明种小鼠, 体重 $19 \pm 2\text{g}$ 。于动物房适应环境, 实验前 14 小时禁食后随机分成组, 每组 10 只动物。口服给药 30min 后, 大剂量组动物活动减少。24h 后, 各剂量组动物恢复正常。观察 7 天, 结果如下表:

化 合 物 浓 度	动 物 死 亡 数	
	IMM-004	IMM-127
200mg/kg	--	--
350mg/kg	--	--
500mg/kg	--	--
700mg/kg	--	--
1g/kg	--	--
2g/kg	--	--
3g/kg	--	--
5g/kg	--	7

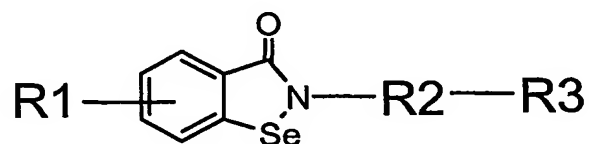
结论: IMM-004 各剂量组未见动物死亡, 半数致死量 $\text{LD}_{50} > 5\text{g/kg}$, 提示此类化合物毒性较低。

产业上的实用性

本发明的苯并异噻唑酮化合物可制备 药物, 尤其是作为抗缺血性心肌损伤的药物。

权利要求书

- 1、 苯并异硒唑酮类化合物在制备抗缺血性心肌损伤药物中的应用。
- 2、 根据权利要求 1 所述的应用，其特征在于，所述药物的作用靶点是 $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$ 交换系统。
- 3、 根据权利要求 1 的制备抗缺血性心肌损伤药物中的应用，其特征在于，所述的苯并异硒唑酮类化合物如通式 (I) 所示



(I)

其中，

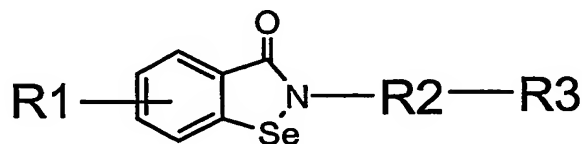
R1 选自氢原子, 卤素, $\text{C}_1\text{-C}_4$ 的直链或支链烷基, $\text{C}_1\text{-C}_4$ 的直链或支链烷氧基, 羟基, 三氟甲基, 硝基, 二-($\text{C}_1\text{-C}_4$ 烷基)-胺基, R^1 可以是亚甲二氧基, R1 的取代位置是在苯并异硒唑中苯环的 3-、4-、5-或 6-位的任意位置;

R2 是 $\text{C}_0\text{-C}_4$ 的饱和或不饱和的链烃, 其中当 C_0 是 R2 表示一个连接 R3 和 N 的键;

R3 表示取代或非取代、饱和或不饱和的苯环基、杂环基并且杂环基含有 1 到 4 个选自氧原子、氮原子、硫原子的杂原子。

- 4、 根据权利要求 3 的制备抗缺血性心肌损伤药物中的应用，其

特征在于，所述的苯并异硒唑酮类化合物如通式 (I) 所示



(I)

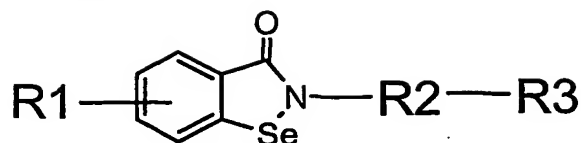
其中，

R1 选自氢原子，卤素，C₁-C₄ 的直链或支链烷基，C₁-C₄ 的直链或支链烷氧基，羟基，三氟甲基，硝基，二-(C₁-C₄ 烷基)-胺基，R1 可以是亚甲二氧基，R1 的取代位置是在苯并异硒唑中苯环的 3-、4-、5-或 6-位的任意位置；

R2 是 C₀-C₂ 的饱和或不饱和的链烃，其中当 C₀ 是 R2 表示一个连接 R3 和 N 的键；

R3 表示取代或非取代、饱和或不饱和的苯环基、杂环基并且杂环基含有 1 到 2 个选自氧原子、氮原子、硫原子的杂原子，杂环基可以是单取代，或二取代的，取代基可以相同或不同的，取代基选自杂环基可以是单取代，或二取代的，取代基可以相同或不同的，取代基选自卤素，C₁-C₄ 的直链或支链烷基，C₁-C₄ 的直链或支链烷氧基，C₁-C₄ 的直链或支链烷硫基，C₁-C₄ 的直链或支链的酮基，C₁-C₄ 的直链或支链卤烷基，羟基，硫基，硝基，腈基，羧基，烷氧羰基。

- 5、根据权利要求 4 的制备抗缺血性心肌损伤药物中的应用，其特征在于，所述的苯并异硒唑酮类化合物如通式 (I) 所示



(I)

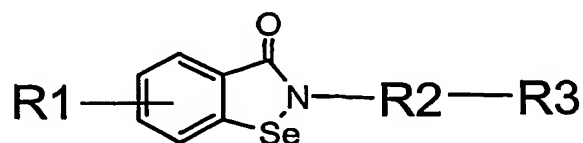
其中，

R1 选自氢原子，卤素，C₁-C₄ 的直链或支链烷基，C₁-C₄ 的直链或支链烷氧基，羟基，三氟甲基，硝基，二-(C₁-C₄ 烷基)-胺基，R1 可以是亚甲二氧基，R1 的取代位置是在苯并异硒唑中苯环的 3-、4-、5-或 6-位的任意位置；

R2 是表示一个连接 R3 和 N 的键；

R3 表示取代或非取代、饱和或不饱和的苯环基、杂环基并且杂环基含有 1 到 2 个选自氧原子、氮原子、硫原子的杂原子，杂环基可以是单取代，或二取代的，取代基可以相同或不同的，取代基选自，卤素，C₁-C₄ 的直链或支链烷基，C₁-C₄ 的直链或支链烷氧基，C₁-C₄ 的直链或支链烷硫基，C₁-C₄ 的直链或支链卤烷基，C₁-C₄ 的直链或支链的酮基羟基，硫基，硝基，腈基，羧基，烷氧羰基。

- 6、 根据权利要求 5 的制备抗缺血性心肌损伤药物中的应用，其特征在于，所述的苯并异硒唑酮类化合物如通式 (I) 所示



(I)

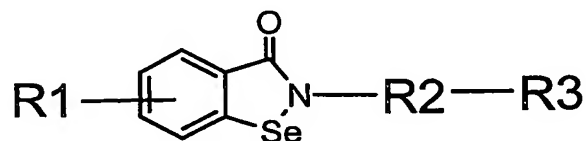
其中，

R1 选自氢原子，卤素，C₁-C₄ 的直链或支链烷基，C₁-C₄ 的直链或支链烷氧基，羟基，三氟甲基，硝基，二-(C₁-C₄ 烷基)-胺基，R1 可以是亚甲二氧基氢，R1 的取代位置是在苯并异硒唑中苯环的 3-、4-、5-或 6-位的任意位置；

R2 是表示一个连接 R3 和 N 的键；

R3 表示取代或非取代的苯基，硫苯基，噻唑基，异噻唑基，咪唑基，吡唑基，噻二唑基，吡啶基，嘧啶基，吡嗪基，哒嗪基，苯并噻唑基，苯并咪唑基，苯并三唑基，三嗪基，三唑基，四唑基，喹啉基，异喹啉基，吲哚基，吲唑基，卡巴唑基，呋喃基，它们可以是单取代，或二取代的，取代基可以相同或不同的，取代基选自氟，氯，溴，甲基，乙基，丁基，甲氧基，乙氧基，甲基硫基，乙基硫基，三氟甲基，羟基，硫基，，硝基，，腈基，羧基，烷氧羰基。

- 7、 根据权利要求 6 的制备抗缺血性心肌损伤药物中的应用，其特征在于，所述的苯并异硒唑酮类化合物如通式 (I) 所示



(I)

其中，

R1 选自氢原子，卤素，C₁-C₄ 的直链或支链烷基，C₁-C₄ 的直链或支链烷氧基，羟基，三氟甲基，硝基，二-(C₁-C₄ 烷基)-胺基，R1 可以是亚甲二氧基氢，R1 的取代位置是在苯并异硒唑中苯环的 3-、4-、5-或 6-位的任意位置；

R2 是表示一个连接 R3 和 N 的键；

R3 表示取代或非取代的苯基，吡啶基；并且苯基和吡啶基可以是单取代，或二取代的，取代基可以相同或不同的，取代基选自氟，氯，溴，甲基，甲氧基，乙氧基，甲基硫基，羟基，硫基，硝基，羧基、甲氧基羰基、乙氧基羰基。

8、 根据权利要求 1 的制备抗缺血性心肌损伤药物中的应用，其特征在于，所述的苯并异硒唑酮类化合物选自

2-苯基-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮，
4-氟-2-苯基-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮，
5-氟-2-苯基-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮，
6-氟-2-苯基-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮，
7-氟-2-苯基-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮，
4-氯-2-苯基-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮，
5-氯-2-苯基-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮，
6-氯-2-苯基-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮，
7-氯-2-苯基-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮，

4-羟基-2-苯基-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
5-羟基-2-苯基-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
6-羟基-2-苯基-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
7-羟基-2-苯基-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(3-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(4-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
4-氯-2-(2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
4-氯-2-(3-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
4-氯-2-(4-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
5-氯-2-(2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
5-氯-2-(3-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
5-氯-2-(4-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
6-氯-2-(2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
6-氯-2-(3-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
6-氯-2-(4-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
7-氯-2-(2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
7-氯-2-(3-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
7-氯-2-(4-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
4-氟-2-(2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
4-氟-2-(3-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
4-氟-2-(4-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,

5-氟-2-(2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
5-氟-2-(3-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
5-氟-2-(4-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
6-氟-2-(2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
6-氟-2-(3-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮
6-氟-2-(4-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
7-氟-2-(2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
7-氟-2-(3-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
7-氟-2-(4-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
4-羟基-2-(2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
4-羟基-2-(3-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
4-羟基-2-(4-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
5-羟基-2-(2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
5-羟基-2-(3-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
5-羟基-2-(4-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
6-羟基-2-(2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
6-羟基-2-(3-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
6-羟基-2-(4-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
7-羟基-2-(2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
7-羟基-2-(3-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
7-羟基-2-(4-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(3-羟基-2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,

2-(2-氯-3-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(5-氯-2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(6-甲氧基-3-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(2,6-二氯-3-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(4,6-二甲基-2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(6-羟基-2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(3-硝基-2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(5-硝基-2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
6-甲基-2-(2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
6-甲氧基-2-(2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
5-硝基-2-(2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
7-甲氧基-2-(2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
6,7-亚甲二氧基-2-(2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(3-甲基-2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(4-甲基-2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(5-甲基-2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(6-甲基-2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(3,5-二氯-2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(4-氯-2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(4-羧基-5-氯-2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(3-羧基-2-吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,

2-(2-四氢吡啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(2-嘧啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(2-噻唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(苯并噻唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(4-甲基-2-嘧啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(5-硝基-2-嘧啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(4,6-二甲基-2-嘧啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
(2,6-二甲基-4-嘧啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(5-乙氧基-2-乙基硫基-4-嘧啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(5-乙氧基羰基-2-羟基-4-嘧啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮
2-(5-羧基-4-嘧啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(6-氯-2-甲基硫基-4-嘧啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(4-氯-2-甲基硫基-6-嘧啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(4-氯-6-甲基-2-嘧啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(6-氯-3-硝基-2-嘧啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(2-氯-5-硝基-4-嘧啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(4,6-二氯-2-嘧啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(4,6-二氯-5-嘧啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(4,6-二羟基-2-嘧啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(2,6-二羟基-4-嘧啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(2,4-二羟基-5-嘧啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(4,6-二硫基-2-嘧啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,

2-(6-羟基-2-巯基-4-嘧啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(6-羟基-2-甲基巯基-4-嘧啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(4-羟基-6-甲基-2-嘧啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(2-羟基-5-甲基-4-嘧啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(1-苯并吡唑基并(3,4-d)嘧啶-4-基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(吡唑并(3,4-d)嘧啶-4-基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(6-羟基吡唑并(3,4-d)嘧啶-4-基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(6-巯基吡唑并(3,4-d)嘧啶-4-基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(2-羟基-4-嘧啶基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(4-氯-2-苯并噻唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(4-甲氧基-2-苯并噻唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(6-甲氧基-2-苯并噻唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(4-甲基-2-苯并噻唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(2-甲基-5-苯并噻唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(6-硝基-2-苯并噻唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(6-溴-2-苯并噻唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(5,6-二甲基-2-苯并噻唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(6-乙氧基-2-苯并噻唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
6-甲基-2-(2-噻唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
6-氯-2-(2-噻唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
6-甲氧基-2-(2-噻唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
5-硝基-2-(2-噻唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,

5-氯-2-(2-噻唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
7-甲氧基-2-(2-噻唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
6,7-亚甲二氧基-2-(2-噻唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(4-甲基-2-噻唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(5-硝基-2-噻唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(2-噻唑啉基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(5-氯-2-噻唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(3-甲基-5-异噻唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(2-咪唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(5-乙氧基羰基-2-咪唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(3-吡唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(4-氰基-5-吡唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(4-乙氧基羰基-3-吡唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(4-乙氧基羰基-2-苯基-3-吡唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(4-氰基-3-吡唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(2-苯基-3-吡唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(1-苯基-5-吡唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(1-苯基-5-吡唑啉酮-3-基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(5-羟基-3-吡唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(1,3,4-噻二唑-2-基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(5-硫基-1,3,4-噻二唑-2-基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(5-甲基-1,3,4-噻二唑-2-基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,

2-(5-三氟甲基-1,3,4-噻二唑-2-基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(5-叔丁基-1,3,4-噻二唑-2-基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(2-吡嗪基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(2-羧基-3-吡嗪基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(2-哒嗪基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(2-苯并咪唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(5,6-二甲基-2-苯并咪唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(5-苯并三唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(7-氯-1,2,4-苯并三嗪-3-基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(1,2,4-苯并三嗪-3-基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(7-溴-1,2,4-苯并三嗪-3-基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(7-氟-1,2,4-苯并三嗪-3-基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(7-硝基-1,2,4-苯并三嗪-3-基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(2-苯并噁吩基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(3-苯并噁吩基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(2-噁吩基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(2,1,3-苯并噁二唑-4-基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(1,2,4-三嗪-4-基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(2,6-二硫基-1,3,5-三嗪-4-基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(5,6-二甲基-1,2,4-三嗪-3-基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(5,6-二苯基-1,2,4-三嗪-3-基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(1,2,4-三唑-4-基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,

2-(5-巯基-1,2,4-三唑-3-基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(5-四唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(5-喹啉基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(2-甲基-4-喹啉基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(6-硝基-5-喹啉基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(1,2,3,4-四氢喹啉-8-基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(2-喹啉基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(3-喹啉基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(8-喹啉基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(6-甲氧基-8-喹啉基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(1-异喹啉基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(5-异喹啉基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(5-吲哚基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(5-异吲哚)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(5-吲唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(6-氯-3-吲唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮
2-(6-吲唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(7-吲唑基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(9-乙基-3-卡巴唑)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(2,3,4-二氢咪唑基-2-乙烯基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮
2-(2-吡啶基甲基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,
2-(2-呋喃基甲基)-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮,

2-[4-(2-羟亚氨基乙基)]-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮

2-[4-(7-正丁基苯并(1,2-c 二氢呋喃-2-酮))]-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮。

- 9、 一种含有苯并异硒唑酮类化合物的组合物在制备抗缺血性心肌损伤药物中的应用。

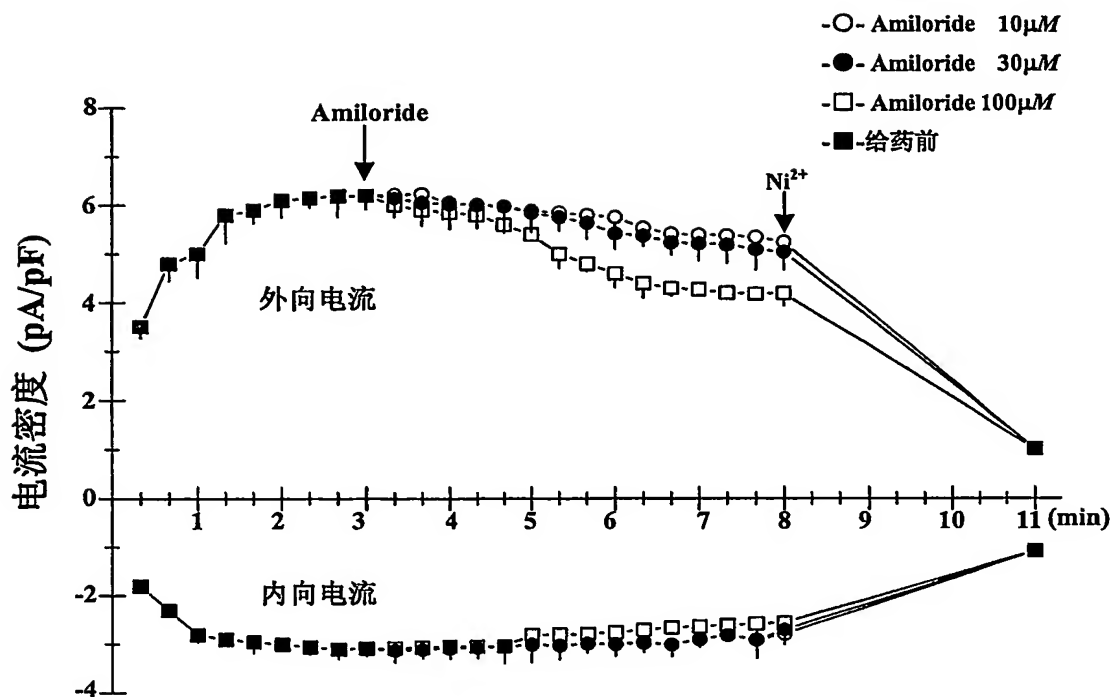


图 1.

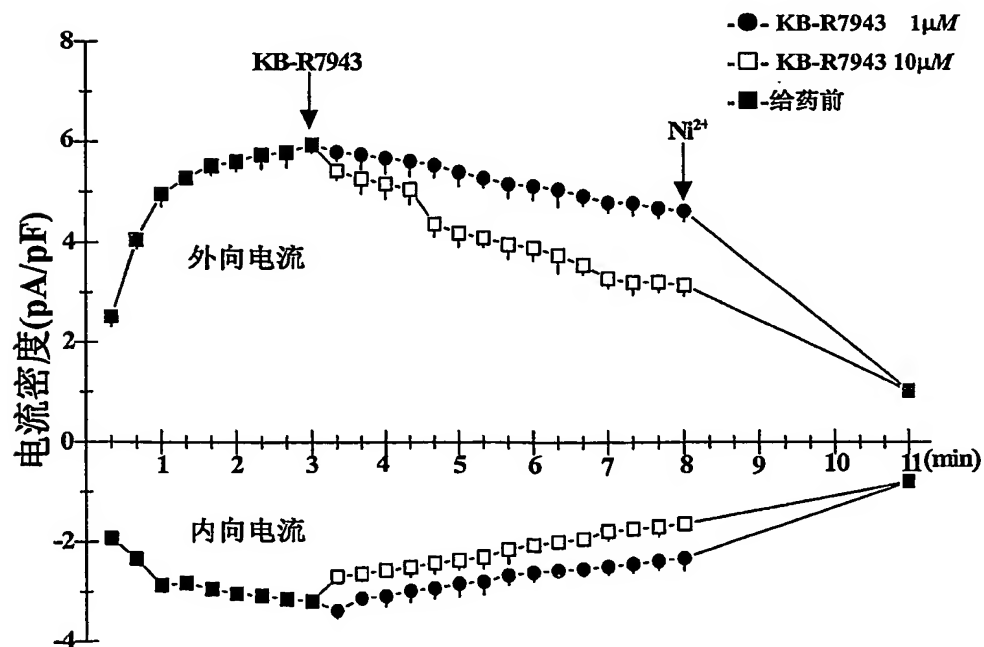


图 2.

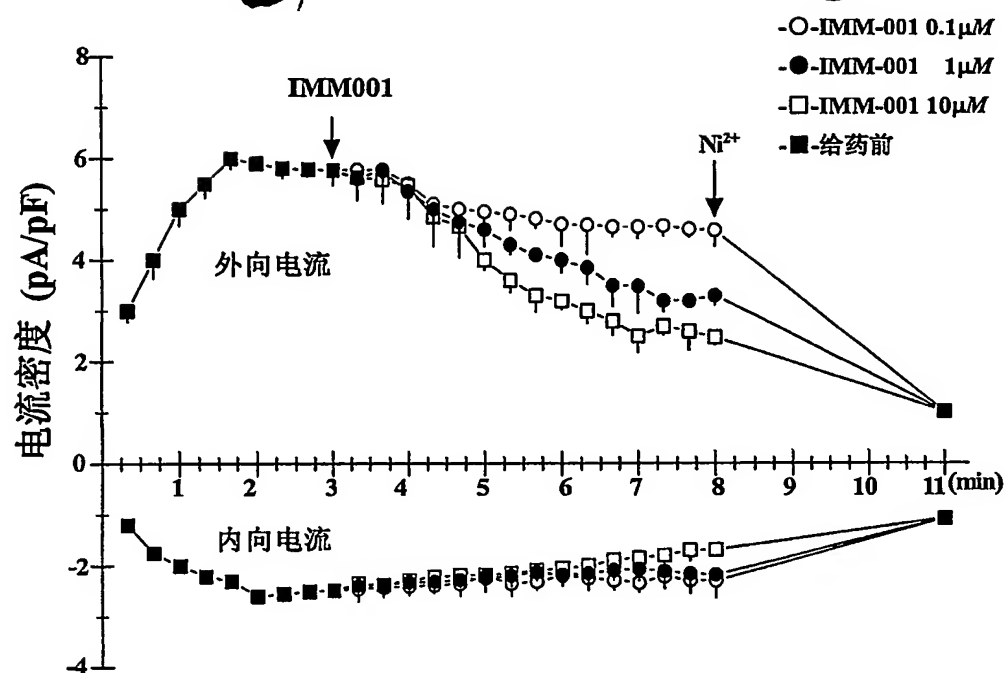


图 3.

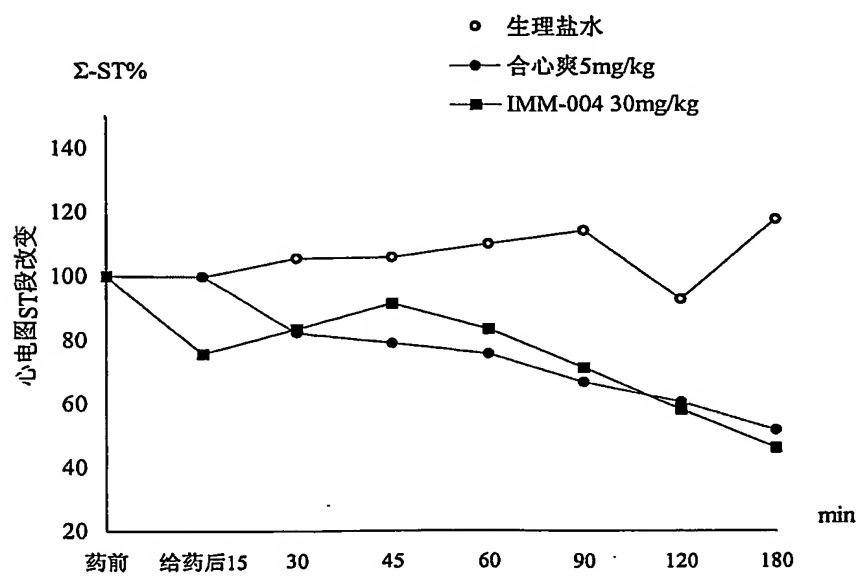


图 4

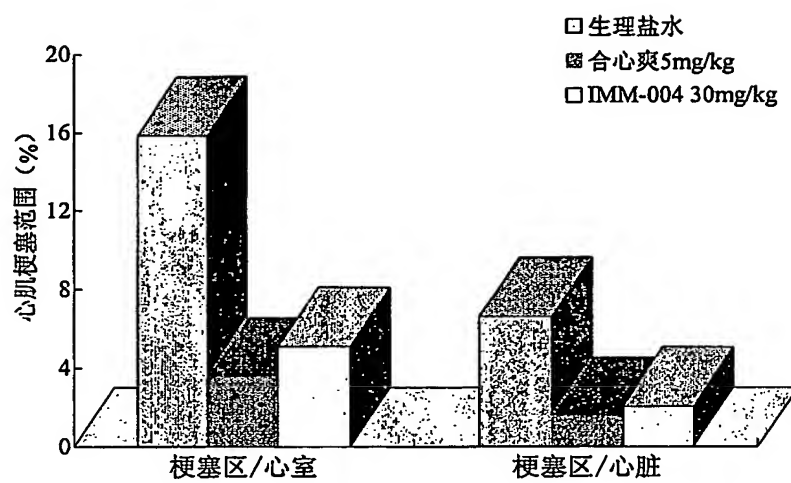


图 5

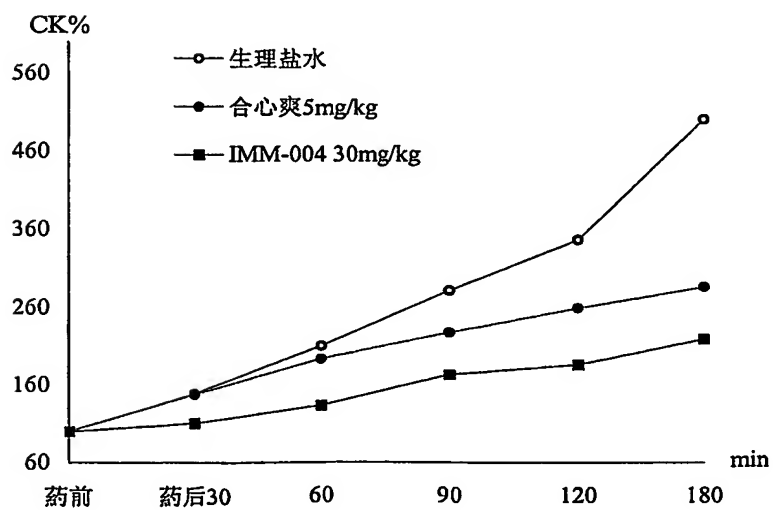


图 6

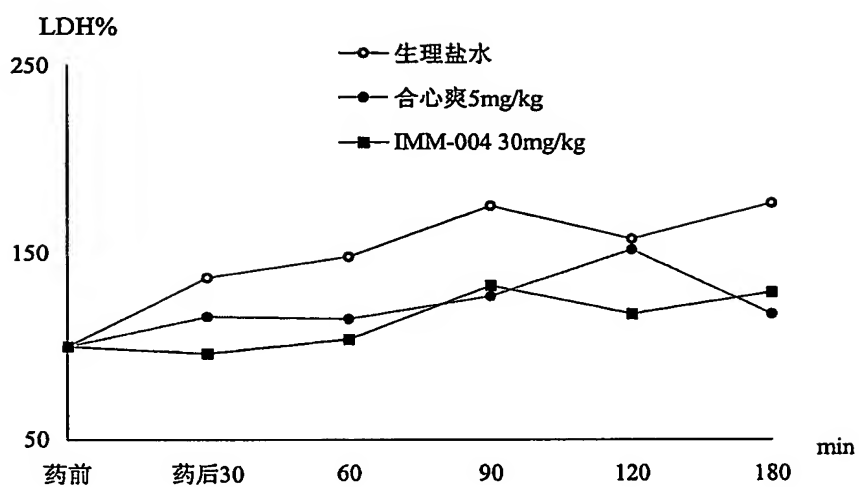


图 7

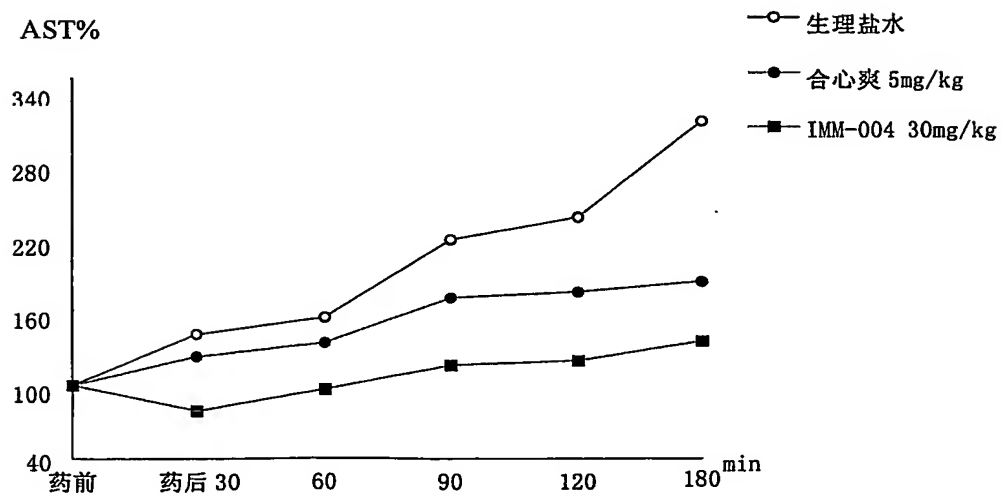


图. 8

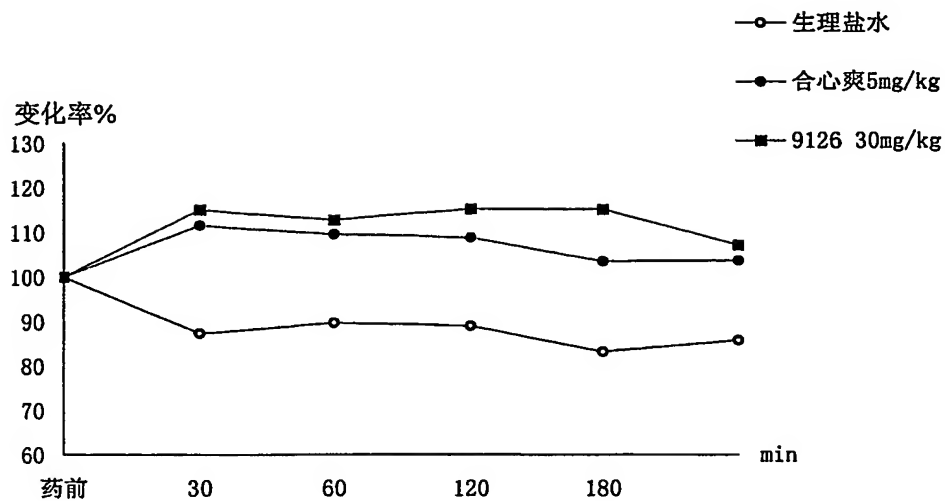


图 9

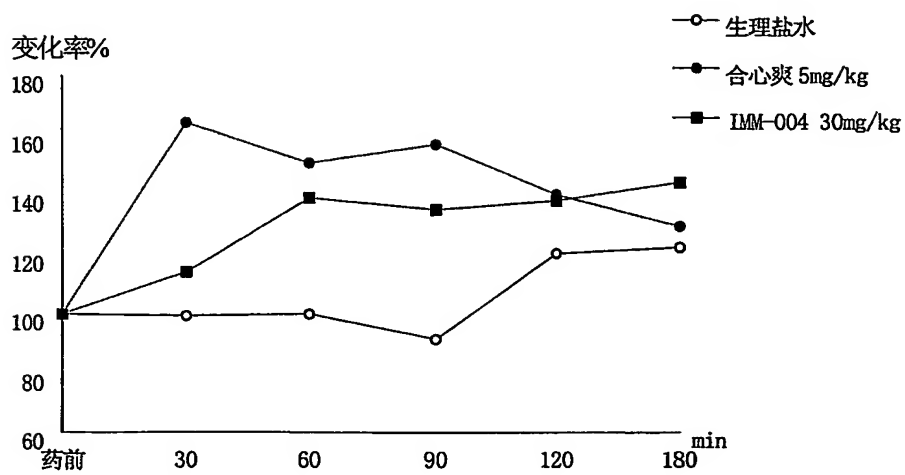


图 10

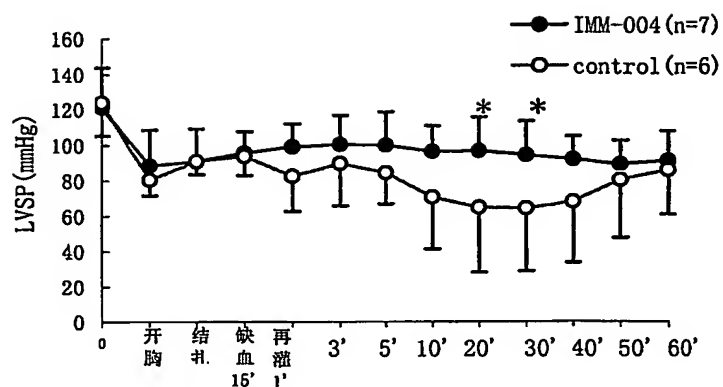


图 11

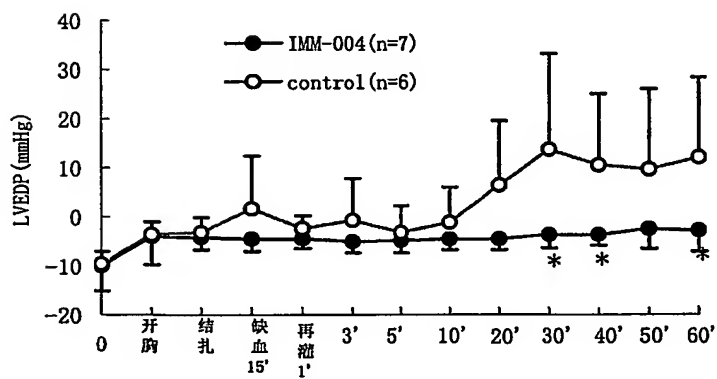


图 12

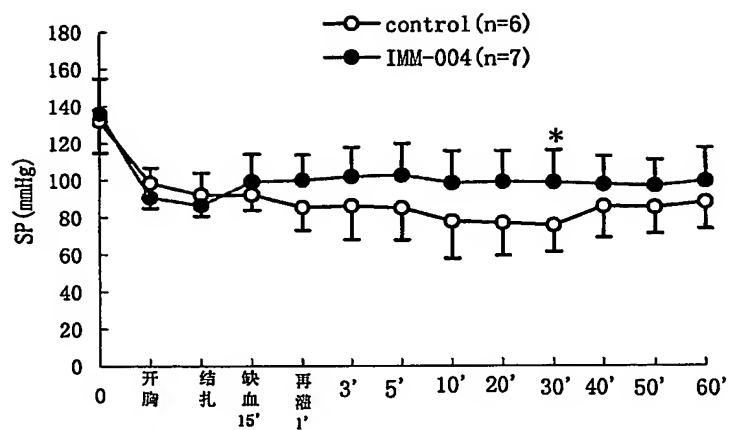


图 13

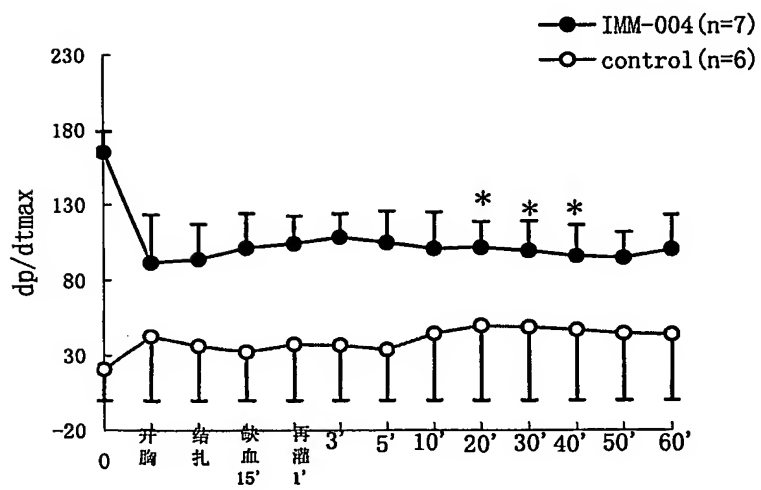


图 14-A

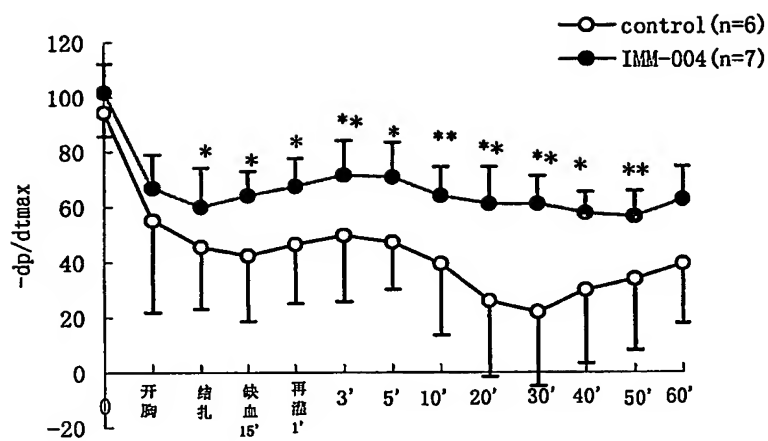


图 14-B

图 14

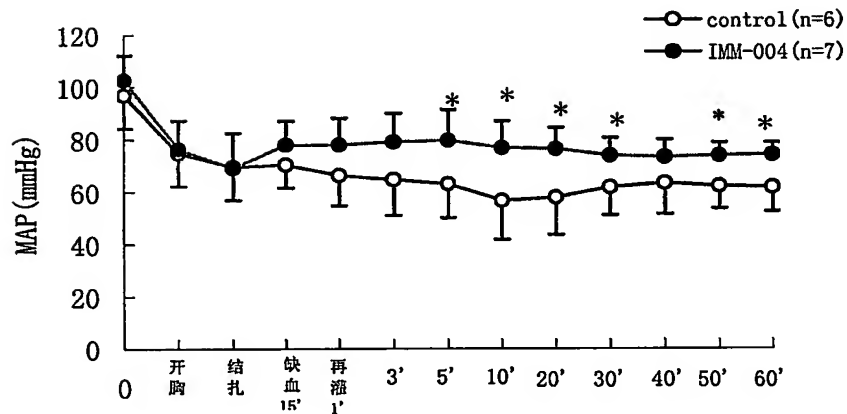


图 15

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN 03/00475

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC⁷: A61K 31/41, A61P 9/10

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC⁷: A61K 31/41, A61P 9/10

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

CHINESE PATENT DOCUMENTS

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNPAT, WPI, EPODOC, PAJ, CAPLUS (benzisoselenazolone, ischemic, myocard+)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN 1243749 A (A. Nattermann und Cie.), 9. Feb. 2000 (09.02.00), the whole	1-9
X	Chemical Abstract, Vol. 122: 71678, Hoshida Shiro et al, "Ebselen protects against ischemia-reperfusion injury in a canine model of myocardial infarction" & American J. of Physiology, Vol. 267(6, Pt. 2), 1994, H2342-H2347, see abstract	1-9
X	Chemical Abstract, Vol. 134: 40460, Maulik Nilanjana et al, "Oxidative stress developed during open heart surgery induce apoptosis: reduction of apoptotic cell death by ebselen, a glutathione peroxidase mimic" & J. of Cardiovascular Pharmacology, Vol. 36(5), 2000, p.601-608, see abstract	1-9

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim (S) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search
5. Sept. 2003 (05.09.03)

Date of mailing of the international search report
18 SEP 2003 (18.09.03)

Name and mailing address of the ISA/CN
6 Xitucheng Rd., Jimen Bridge, Haidian District,
100088 Beijing, China
Facsimile No. 86-10-62019451

Authorized officer

SUN, Li

Telephone No. 86-10-62093891



INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN 03/00475

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
CN-A-1243749	00-02-09	NO-A-9903161	00-01-03
		AU-A1-9936818	00-01-20
		MX-A-9906106	00-07-31
		ZA-A-9904289	01-01-02
		US-A1-01027176	01-10-04
		US-B2-6495517	02-12-17

A. 主题的分类

IPC⁷: A61K 31/41, A61P 9/10

按照国际专利分类表(IPC)或者同时按照国家分类和 IPC 两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类体系和分类号)

IPC⁷: A61K 31/41, A61P 9/10

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

中国专利文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称和, 如果实际可行的, 使用的检索词)

CNPAT, WPI, EPODOC, PAJ, CAplus (苯并异噻唑酮、缺血的、心肌)

C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求编号
X	CN 1243749 A (依特曼和希依有限公司), 9.2 月 2000 (09.02.00), 全文	1—9
X	Chemical Abstract, Vol. 122: 71678, Hoshida Shiro 等, "Ebselen protects against ischemia-reperfusion injury in a canine model of myocardial infarction" & American J. of Physiology, Vol. 267(6, Pt. 2), 1994, H2342-H2347, 参见摘要	1—9
X	Chemical Abstract, Vol. 134: 40460, Maulik Nilanjana 等, "Oxidative stress developed during open heart surgery induce apoptosis: reduction of apoptotic cell death by ebselen, a glutathione peroxidase mimic" & J. of Cardiovascular Pharmacology, Vol. 36(5), 2000, p.601-608, 参见摘要	1—9

☐ 其余文件在 C 栏的续页中列出。☒ 见同族专利附件。

* 引用文件的专用类型:

“A” 明确叙述了被认为不是特别相关的一般现有技术的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先的申请或专利

“L” 可能引起对优先权要求的怀疑的文件, 为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布的在后文件, 它与申请不相抵触, 但是引用它是为了理解构成发明基础的理论或原理

“X” 特别相关的文件, 仅仅考虑该文件, 权利要求所记载的发明就不能认为是新颖的或不能认为是有创造性

“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 权利要求记载的发明不具有创造性

“&” 同族专利成员的文件

国际检索实际完成的日期

5.9 月 2003 (05.09.03)

国际检索报告邮寄日期

18. 9月 2003 (18.09.03)

国际检索单位名称和邮寄地址

ISA/CN

中国北京市海淀区西土城路 6 号(100088)

传真号: 86-10-62019451

授权官员

孙 俐

电话号码: 86-10-62093891



国际检索报告
关于同族专利成员的情报

国际专利申请
PCT/CN 03/00475

检索报告中引用的 专利文件	公布日期	同族专利成员	公布日期
CN-A-1243749	00-02-09	NO-A-9903161	00-01-03
		AU-A1-9936818	00-01-20
		MX-A-9906106	00-07-31
		ZA-A-9904289	01-01-02
		US-A1-01027176	01-10-04
		US-B2-6495517	02-12-17